

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE LYON-SUD

Année 1978 - N°168

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ONTOGÉNÈSE
DES CELLULES A CALCITONINE DE LA THYROÏDE
CHEZ LE FOËTUS HUMAIN :
APPORT DE L'IMMUNOCYTOLOGIE**

T H È S E

présentée

à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
et soutenue publiquement le 12 mai 1978
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Elisabeth ALIZON

née le 11 juin 1952
à Lyon

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE LYON-SUD

Année 1978 - N° _____

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ONTOGÉNÈSE
DES CELLULES A CALCITONINE DE LA THYROÏDE
CHEZ LE FOËTUS HUMAIN :
APPORT DE L'IMMUNOCYTOLOGIE**

T H È S E

présentée

à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
et soutenue publiquement le 12 mai 1978
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Elisabeth ALIZON

née le 11 juin 1952
à Lyon



Travail effectué dans le Laboratoire d'Histologie et

Embryologie de la Faculté de Médecine Lyon-Sud, sous la

direction de Monsieur le Professeur Agrégé P.M. DUBOIS

dans le cadre de l'exécution du contrat I.N.S.E.R.M.

ATP 55.77.87.

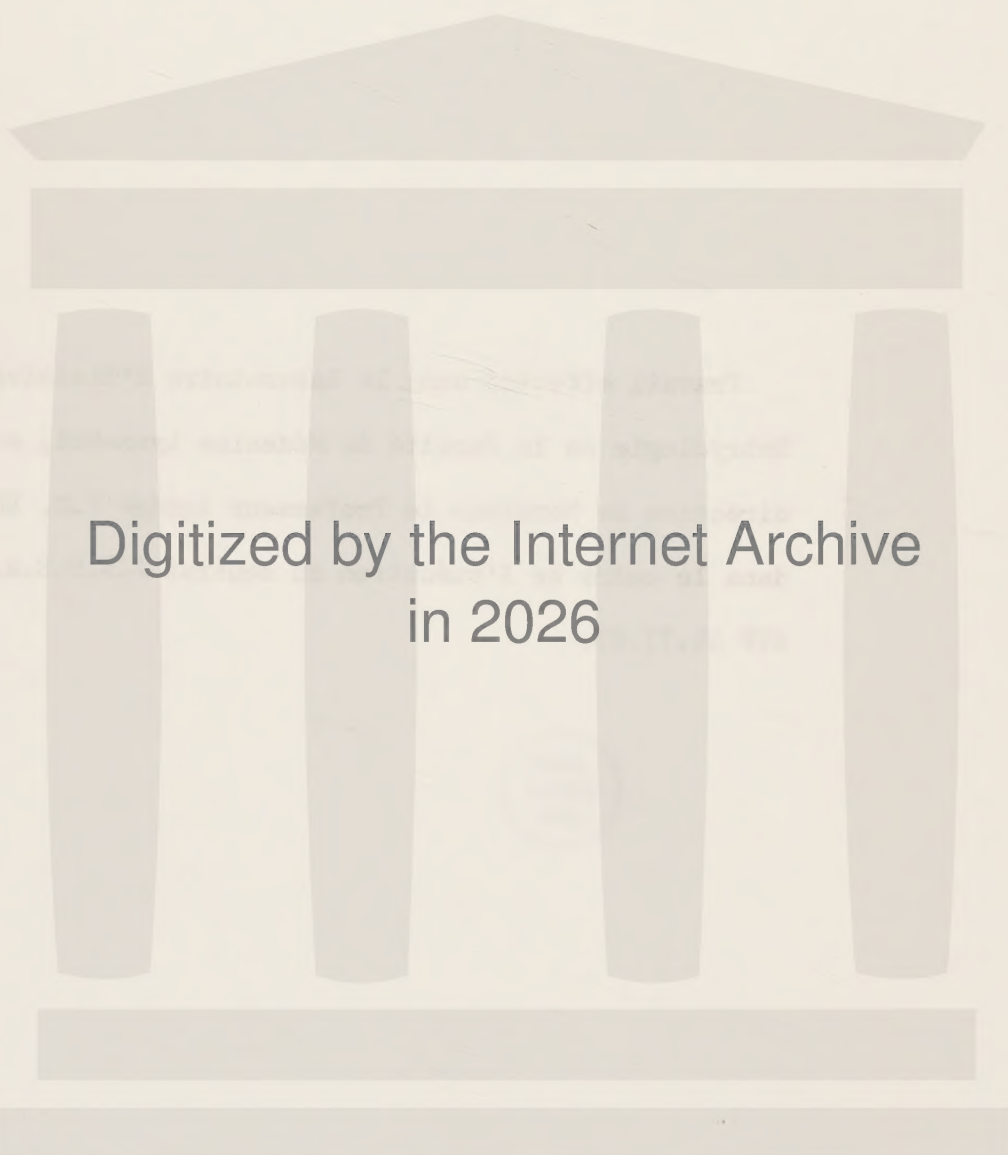
Travail effectué dans le Laboratoire d'Histologie et

Embryologie de la Faculté de Médecine Lyon-Sud, sous la

direction de Monsieur le Professeur Agrégé P.M. DUBOIS

dans le cadre de l'exécution du contrat I.N.S.E.R.M.

ATP 55.77.87.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554221_0017

FACULTE DE MEDECINE LYON SUD

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président : Mr le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Mr le Professeur ELBAZ

Deuxième Vice-Président : Mr B. ROUSSET, chercheur

Troisième Vice-Président : Mr R. LOPEZ, étudiant

Secrétaire Général de l'Université : Mr J. RAMBAUD, Administrateur civil

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R.)

Faculté de Médecine GRANGE-BLANCHE : Mr le Docteur B. SALLE, Maître de
Conférences

Faculté de Médecine ALEXIS CARREL : Mr le Professeur R. MORNEX

U.E.R. de Médecine LYON NORD : Mr le Docteur J.P. NEIDHARDT, Maître de
Conférences

Faculté de Médecine LYON SUD : Mr le Professeur J. NORMAND

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques : Mr le Professeur C.A. BIZOLLON

U.E.R. des Techniques de Réadaptation : Mr A. MORGON, Maître de
Conférences

U.E.R. de Biologie Humaine : Mr J.P. REVILLARD, Maître de Conférences

U.E.R. d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur EPS

U.E.R. des Sciences Odontologiques : Mr le Docteur R. VINCENT

U.E.R. de Mathématiques : Mr le Professeur E. COMBET

U.E.R. de Physique : Mr le Professeur J. DELMAU

U.E.R. de Chimie Biochimie : Mr le Professeur J. HUET

U.E.R. des Sciences de la Nature : Mr le Professeur R. GINET

U.E.R. des Sciences Physiologiques : Mle le Professeur J.F. WORBE

U.E.R. de Physique Nucléaire : Mr le Professeur M. GUSAKOW

I.U.T. 1 : Mr le Professeur B. POUYET

I.U.T. 2 : Mr J. GALLET, Directeur ENSAM

Observatoire de Lyon : Mr G. MONNET, Astronome Adjoint

U.E.R. de Mécanique : Mle le Professeur G. COMTE-BELLOT

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

FACULTE DE MEDECINE LYON SUD

PROFESSEURS TITULAIRES

Mrs AIMARD Gilbert	Neurologie
BRUN Jacques	Clinique Pneumo-Phtisiologique
COLOMB Daniel	Dermatologie
GUILLEMIN Georges	Clinique Chirurgicale
LATARJET Michel	Clinique Chirurgicale
MAYER Marcel	Cancérologie
NORMAND Jean	Cardiologie
NOTTER Armand	Gynécologie-Obstétrique
PINET Edouard	Radiologie
ROBERT Jacques	Chaire de Génétique Médicale
TOLOT François	Médecine Interne - Médecine du Travail
VACHON Alphonse	Clinique Médicale - Maladie de l'Appareil Digestif
VINCENT Daniel	Chaire de Biochimie Appliquée

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mrs BOUVIER Maurice	Rhumatologie
BRAILLON Georges	Anatomie
GILLY Robert	Pédiatrie
LAPRAS Claude	Neuro-Chirurgie
LOUISOT Pierre	Biochimie
MORET Robert	Biophysique
PERRIN-FAYOLLE Max	Pneumo-Phtisiologie
SITE Jean	Mathématiques - Statistiques - Informatique
VIALIER-RAYNARD Jean	Bactériologie - Virologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mrs ARCHIMBAUD Jean-Pierre

BERARD Philippe

BERTRAND Jean-Louis

Mme BONNET Mireille

Mrs CABANAC Michel

CROISILLE Marc

DE VILLARD Régis

DUBOIS Paul

HAGUENAUER Jean-Paul

JEANNEROD Marc

JOUVENCEAUX André

LAIR Jacques

LEV RAT Roger

LOMBARD-PLATET Roger

MICHEL Albert

MOLLARD Pierre

PALIARD Pierre

REBOUILLAT Jacques

REVILLARD Jean-Pierre

ROCHET Michel

ROMAGNY Gabriel

TERMET Hubert

TETE Roger

THOULON Jean-Marie

TOUBOUL Paul

TREPPON Christian

TRILLET Marc

Urologie

Chirurgie Générale

Maladies Infectieuses

Ophtalmologie

Physiologie

Radiologie

Neuro-Psychiatrie

Histologie

O.R.L.

Médecine Expérimentale

Hémobiologie

Stomatologie

Médecine Interne

Séméiologie Chirurgicale

Anesthésiologie

Chirurgie Infantile

Séméiologie Médicale

Chirurgie Générale

Néphrologie

Anatomie Pathologique

Pédiatrie

Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire

Médecine Interne

Gynécologie Obstétrique

Cardiologie

Clinique Médicale "A"

Neurologie

Composition du Jury :

- Président : Monsieur le Professeur C. GIROD

- Assesseurs : Monsieur le Professeur Agrégé P.M. DUBOIS

Monsieur le Professeur Agrégé M. DAVID

Monsieur le Professeur Agrégé F. BERTHEZENE

A nos Maîtres des Hôpitaux de Lyon :

Monsieur le Professeur DESPIERRES

Monsieur le Docteur CHAUVIRE

Monsieur le Professeur LATARJET

Monsieur le Professeur BRAILLON

Monsieur le Docteur OLLAGNIER

Monsieur le Professeur NOEL

Monsieur le Docteur DECHAVANNE

Monsieur le Docteur CARRON

A mes Parents,

Ils m'ont tout donné, qu'ils trouvent ici un faible
témoignage de ma profonde affection et de ma reconnaissance.

A mes soeurs,

A ma famille,

A tous mes amis.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur C. GIROD,

Vous avez bien voulu vous intéresser à notre travail et
présider notre jury. Votre savoir, vos écrits, votre renommée nous
rendent très fière de l'honneur que vous nous faites.

Veillez recevoir le respectueux hommage de notre
profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé P.M. DUBOIS,

Le souvenir de la très haute qualité de votre enseignement demeure dans notre mémoire et nous a guidé tout naturellement vers vous. Vous nous avez fait l'honneur de nous accueillir dans votre Laboratoire et de nous confier la responsabilité de ce travail.

Par votre rigueur scientifique et votre patience vous nous avez initiée à l'histologie. De vos conseils judicieux vous avez guidé cette étude, en consacrant une part importante de votre temps.

Nous espérons avoir été digne de la confiance que vous nous avez accordée et souhaitons poursuivre d'autres recherches sous votre direction.

Veillez accepter l'hommage de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé M. DAVID,

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Nous vous en remercions et vous exprimons notre gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé F. BERTHEZENE,

Vous avez bien voulu vous intéresser à ce travail. Soyez assuré que nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites de bien vouloir être notre juge.

A Monsieur le Docteur L. DAVID,

La part active que vous avez prise à ce travail a été indispensable. Vous nous avez donné le sérum immun, puis vous avez réalisé les dosages radio-immunologiques. Ces travaux sont également les vôtres. Nous tenons à vous exprimer notre reconnaissance et à vous adresser nos sincères remerciements.

Nous remercions vivement Messieurs les Professeurs

P. MAGNIN et J. LIARAS	Hôpital Edouard Herriot
M. DUMONT	Hôpital de la Croix Rousse
A. NOTTER et R. GARMIER	Hôtel Dieu
M. BETHENOD	Hôpital Debrousse

Sans leur participation cette étude n'aurait jamais pu être menée à son terme.

A nos amis du Laboratoire d'Histologie,

Vous avez eu la grande gentillesse de nous faire part de vos expériences personnelles. Nous vous remercions pour l'aide que vous nous avez apportée tout au long de ce travail. Soyez assurés de notre profonde amitié.

A Madame TSCHORA,

Vous avez dactylographié notre thèse avec bonne humeur et dextérité. Veuillez accepter nos vifs remerciements.

S O M M A I R E

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES CELLULES</u>	
<u>A CALCITONINE</u>	3
I - IDENTIFICATION DES CELLULES A CALCITONINE	4
A - Mammifères autres que l'homme	4
B - Chez l'homme	4
C - Répartition des cellules "C"	5
1 - Mammifères autres que l'homme	5
2 - Chez l'homme	5
II - MORPHOLOGIE DES CELLULES A CALCITONINE	6
A - Aspect en microscopie photonique	6
1 - Caractéristiques tinctoriales	6
2 - Caractéristiques histo-enzymologiques	7
B - Ultrastructure des cellules "C"	7
C - Le système A.P.U.D.	9
1 - Définition	9
a - Morphologie	9
b - Histochimie	9
2 - Appartenance des cellules parafolliculaires au système A.P.U.D.	10
III - ORIGINE DES CELLULES "C"	11
A - Rappel de l'embryologie de la thyroïde	11
B - Relation entre le corps ultimo-branchial et les cellules "C"	12
C - Origine ectodermique des cellules "C"	14
IV - LES CELLULES PARAFOLLICULAIRES CHEZ LE FOETUS HUMAIN	16

<u>DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS</u>	18
<u>PREMIER CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES</u>	18
I - LES THYROIDES	18
II - FIXATION ET REALISATION DES COUPES	18
A - Prélèvements inclus en paraffine	19
B - Traitement des prélèvements destinés à la coupe en congélation	20
III - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET HISTO-ENZYMOLOGIQUES	20
A - Trichrome de MASSON	20
B - Imprégnation argentique : technique d'UNGEWITTER	22
C - Histo-enzymologie	23
IV - IMMUNOCYTOLOGIE	24
A - Sérums utilisés	24
1 - Sérum anti-calcitonine	24
2 - Sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne	24
B - Technique d'immunofluorescence indirecte	24
C - Contrôle de la spécificité de la réaction immunocytologique	25
<u>DEUXIEME CHAPITRE : RESULTATS</u>	27
I - RESULTATS DE L'ETUDE IMMUNOCYTOLOGIQUE	27
A - Chez le foetus normal	27
B - Chez l'anencéphale	28
C - Etude de la spécificité de la réaction	29
II - ETUDE HISTOLOGIQUE	29
A - Trichrome de MASSON	29
B - Imprégnation argentique	30
C - Histo-enzymologie	30

<u>TROISIEME CHAPITRE : DISCUSSION</u>	32
I - SPECIFICITE DE LA METHODE IMMUNOCYTOLOGIQUE	32
A - Etude radio-immunologique de l'anticorps	32
B - Contrôle de la réaction immunocytologique	32
II - SPECIFICITE DE LA REACTION ENZYMATIQUE	33
III - COMPARAISON DES RESULTATS AVEC LES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	33
IV - RELATION ENTRE LES CELLULES "C" ET LA SOMATOSTATINE	36
V - SIGNIFICATION FONCTIONNELLE	36
<u>CONCLUSIONS</u>	39
<u>RESUME</u>	40
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	41
<u>TABLEAUX, FIGURES ET PLANCHES</u>	hors texte

I N T R O D U C T I O N

La paroi des vésicules thyroïdiennes des mammifères renferme deux types cellulaires : d'une part, des cellules folliculaires ou principales, d'autre part, des cellules décrites pour la première fois chez le Chien par BABER (1876), sous le nom de "PARENCHYMATOUS CELLS" ; HURTHLE (1894) parle de "PROTOPLASMAREICHEN ZELLEN" ; NONIDEZ (1932) crée le terme de cellules parafolliculaires. Ces différents qualificatifs désignent tous les mêmes éléments cellulaires, appelés couramment cellules parafolliculaires ou cellules claires.

Les cellules folliculaires ont été rapidement rattachées au fonctionnement thyroïdien, et de nombreux travaux ont démontré leur participation à la synthèse et à l'excrétion des hormones thyroïdiennes.

Au contraire, la connaissance des cellules parafolliculaires est restée longtemps strictement morphologique. De nombreuses questions se sont posées au sujet de leur signification fonctionnelle. Parmi les diverses hypothèses émises, peu à peu, s'est dégagée la notion d'un deuxième système endocrinien thyroïdien constitué par les cellules parafolliculaires (FALCK et coll., 1964). Cependant, il a fallu attendre plusieurs années pour démontrer le rôle de ces cellules grâce à des techniques immunocytologiques (BUSSOLATI et PEARSE, 1967). La mise en évidence d'une origine embryologique différente de celle des cellules folliculaires, est venue renforcer la notion de l'originalité des cellules parafolliculaires dans la paroi des vésicules thyroïdiennes, originalité déjà soulignée par les particularités des caractères cytologiques de ces cellules.

Les cellules parafolliculaires semblent présenter une grande similitude morphologique et fonctionnelle chez tous les sujets adultes des différentes espèces étudiées, y compris l'Homme.

La mise au point des dosages radio-immunologiques a permis de progresser dans la connaissance de la sécrétion de la calcitonine chez l'Homme adulte et chez l'enfant jusqu'à la période néo-natale.

A la naissance, la calcitonine semble jouer un rôle important puisque les taux sériques de calcitonine immunoréactive sont élevés chez le nouveau-né (DAVID et ANAST, 1973). Des taux sériques élevés au cours des premières heures de la vie, impliquent la présence de calcitonine pendant la gestation dans l'espèce humaine. Cependant cette période est encore mal connue.

Le but de ce travail est de rechercher la présence de cellules parafolliculaires dans la thyroïde foetale, de déterminer le moment de leur apparition, et de préciser leurs caractères morphologiques.

Dans la première partie, nous décrivons donc les cellules parafolliculaires de l'adulte à partir de travaux ayant fait appel aux techniques histologiques et histochimiques.

Dans la deuxième partie, nous exposons nos propres travaux sur les cellules parafolliculaires chez le fœtus humain. L'utilisation de l'immunocytoologie nous permet de démontrer une apparition assez précoce des cellules parafolliculaires. Les caractères morphologiques de ces cellules sont précisés par diverses techniques histologiques et histochimiques. La discussion de nos résultats nous amène à poser le problème du rôle de la calcitonine pendant la vie foetale.

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR
LES CELLULES A CALCITONINE

La calcitonine a été découverte chez le Chien par COPP et coll. (1962) à partir d'un broyat de complexe thyroïde-parathyroïdes. Cette substance exerce une action hypocalcémiante, d'où son nom. Une origine parathyroïdienne a d'abord été attribuée à la calcitonine; en fait, elle est synthétisée par la thyroïde. Les extraits thyroïdiens de différents mammifères (Rat, Lapin, Chien, Porc, Boeuf, Singe) provoquent une hypocalcémie (HIRSCH et coll., 1964). L'injection sous cutanée à des Rats sains, d'extraits thyroïdiens de Rat, entraîne une baisse de la calcémie de 20 à 30 % au dessous du taux normal. Des broyats de thyroïdes humaines, injectés au Rat, induisent aussi une hypocalcémie.

L'origine thyroïdienne de la calcitonine est confirmée chez la Chèvre (FOSTER et coll., 1964). Chez cet animal, la vascularisation indépendante des parathyroïdes externes permet de les isoler de la thyroïde. La perfusion avec du sang hypercalcémique des parathyroïdes externes ne modifie pas la calcémie ; par contre quand la thyroïde est incluse dans l'ensemble perfusé, la chute de la calcémie atteint 15 %. FOSTER et coll. (1964) proposent le terme de thyrocalcitonine.

L'effet hypocalcémiant d'extraits purifiés de thyroïde humaine injectés au Rat et au Singe, est confirmé par MILHAUD et coll. (1965). Inversement la thyrocalcitonine de Porc injectée à l'homme, provoque une baisse significative de la calcémie.

La nature peptidique de la calcitonine de Porc est reconnue par HIRSCH et coll. (1964). La structure chimique de la calcitonine humaine, isolée à partir d'une métastase hépatique d'un cancer de la thyroïde, a été établie par NEHER et coll. (1968). D'après MILHAUD (1976) il est très probable que l'hormone humaine normale ait la même séquence que l'hormone tumorale, bien que ce fait ne soit pas établi avec certitude. La calcitonine humaine est un peptide linéaire de 32 acides aminés (NEHER et coll., 1968) (fig. 1). L'enchainement d'autres calcitonines est connu (Porc, Bovin, Ovin, Saumon...). Il s'agit toujours de peptides linéaires de 32 acides aminés, les extrémités de la chaîne sont invariables, la partie centrale (séquence des acides aminés 10 à 27) varie d'une espèce à l'autre.

I - IDENTIFICATION DES CELLULES A CALCITONINE

La plupart des travaux sur les cellules à calcitonine ont été réalisés sur différentes espèces de mammifères autres que l'homme.

A - Mammifères autres que l'homme

Une preuve indirecte de la présence de calcitonine dans les cellules parafolliculaires a été apportée chez le Rat (BUGNON et coll., 1967 ; ERICSON, 1968 ; STOECKEL et PORTE, 1972) et le Poulet (STOECKEL et PORTE, 1972). La calcémie évolue de façon similaire après injection de vitamine D₃ à des Rats, soit qu'ils aient conservé leur thyroïde intacte, soit que la sécrétion de thyroxine ait été bloquée: les cellules parafolliculaires s'hypertrophient, alors que les cellules parathyroïdiennes ont l'aspect de cellules au repos (BUGNON et coll., 1967). L'étude ultrastructurale révèle une dégranulation presque totale des cellules parafolliculaires après injection de vitamine D₂ au Rat (ERICSON, 1968).

La preuve directe de la localisation de la calcitonine dans les cellules parafolliculaires est apportée par BUSSOLATI et PEARSE (1967) chez le Porc, par utilisation de la technique d'immunofluorescence indirecte. La spécificité de la réaction est démontrée: seules les cellules contenant de la calcitonine sont rendues fluorescentes. Elles sont appelées indifféremment cellules à calcitonine ou cellules "C" ou cellules parafolliculaires.

B - Chez l'homme

L'existence des cellules parafolliculaires est connue depuis longtemps, mais leur identification comme cellules à calcitonine est récente (WOLFE et coll., 1974). La répartition des cellules "C" dans des tranches du parenchyme thyroïdien a été comparée à la teneur en calcitonine de tranches adjacentes du même organe, en utilisant l'immunocytologie et les dosages biologiques et radioimmunologiques (WOLFE et coll., 1974) (fig. 2). Les cellules marquées sont les cellules parafolliculaires. Leur nombre est en corrélation étroite avec la teneur en calcitonine, aussi bien chez l'Homme adulte (WOLFE et coll., 1974) que

chez le Nouveau-né (WOLFE et coll., 1975). Mais les cellules "C" sont de trois à dix fois plus nombreuses chez l'enfant à la naissance que chez l'adulte. Les taux de calcitonine sont aussi bien supérieurs.

Chez les mammifères, y compris l'Homme adulte et l'enfant nouveau-né, les cellules parafolliculaires, et elles seules, contiennent la calcitonine. Le terme cellule "C" désigne aussi les cellules glandulaires des corps ultimobranchiaux des vertébrés inférieurs et des oiseaux qui produisent la calcitonine (STOECKEL, 1970).

C - Répartition des cellules "C"

1° - Mammifères autres que l'homme

Chez le Rat, les cellules parafolliculaires ne sont pas réparties au hasard dans toute la thyroïde (STUX et coll., 1961 ; STOECKEL et PORTE, 1970 ; PENG et coll., 1976). Elles sont distribuées le long de l'axe longitudinal dans le tiers moyen des lobes latéraux (fig. 3).

Les cellules parafolliculaires sont à l'intérieur de la lame basale des follicules thyroïdiens et appliquées contre elle. Elles n'ont jamais de contact avec la colloïde et en sont séparées par le cytoplasme des cellules folliculaires. Les cellules parafolliculaires sont isolées ou en petit groupe entre les cellules folliculaires. STUX et LEBLOND (1961) considèrent les cellules interstitielles isolées ou groupées en flot de WOLFLER comme des cellules parafolliculaires. Cet aspect particulier de cellules interfolliculaires, correspond à un artéfact dû à la coupe tangentielle de cellules claires normalement situées à un pôle d'une vésicule. Le caractère tangentiel de la coupe a pour effet de détacher ce groupe cellulaire de la paroi vésiculaire.

2° - Chez l'Homme

Chez l'Homme les cellules "C" sont distribuées dans le tiers moyen des lobes latéraux en position inter et parafolliculaire. Il n'y a pas de cellules à calcitonine immédiatement sous la capsule ni dans l'isthme (WOLFE et coll., 1974 ; MAC MILLAN, 1974).

Les taux les plus élevés de calcitonine sont trouvés dans la

même zone. Ils atteignent, chez l'adulte, un maximum de 10 à 160 M.R.C. m.U. par gramme (*) de tissu thyroïdien frais dans le tiers moyen des lobes, contre 0,5 à 5 M.R.C. m.U./g dans les extrémités supérieures et inférieures des lobes (WOLFE et coll., 1974). Chez le nouveau-né les cellules "C" se répartissent dans les deux tiers supérieurs des lobes. Elles sont de trois à dix fois plus nombreuses que chez l'adulte. La concentration de calcitonine dans les deux tiers supérieurs des lobes varie de 85 à 2 100 M.R.C. m.U./g, soit des taux dix fois supérieurs à ceux existant dans la même portion de thyroïde humaine adulte.

II - MORPHOLOGIE DES CELLULES A CALCITONINE

A - Aspect en microscopie photonique

1° - Caractéristiques tinctoriales

Les cellules parafolliculaires sont souvent appelées cellules claires du fait de leur peu d'affinité pour les colorants. Après coloration au trichrome de Masson, le cytoplasme de ces cellules est pâle.

Elles peuvent être repérées après coloration au P.A.S. par l'absence de grains de colloïde marqués par cette technique dans leur cytoplasme (STUX et coll., 1961).

L'aspect clair et homogène du cytoplasme est lié au mode de fixation (DUMONT, 1958). Après fixation au liquide de Helly, suivie de post-chromisation, le cytoplasme de ces éléments se colore intensivement par l'éosine (hématéïne-éosine), par la fuchsine acide (fuchsine acide, bleu d'aniline de Mallory), par l'hématoxyline ferrique de Regaud. La coloration de Mallory Azan permet d'individualiser ces cellules.

* Les résultats sont exprimés en unité M.R.C. (Medical Research Council) définie initialement comme mille fois la quantité de calcitonine capable de provoquer une baisse de la calcémie de 1 mg/l, une heure après administration au Rat dans des conditions définies.

Leur argyrophilie est difficile à mettre en évidence (DUMONT, 1955, 1958 ; TAVARES de SOUSA et CARVALHEIRA, 1968).

Les cellules parafolliculaires se montrent métachromatiques après coloration au bleu de toluïdine, mais la réaction est plus ou moins évidente selon les espèces animales (TAVARES de SOUSA et CARVALHEIRA, 1968 ; TETELBAUM et coll., 1971). Le traitement préalable des coupes pendant deux heures par HCl 0,1M facilite la métachromasie.

2° - Caractéristiques histo-enzymologiques

L'activité acétylcholinestérasique des cellules parafolliculaires de différents mammifères (Chien, Chat, Cobaye, Rat, Souris, Lapin) est connue depuis les travaux de DUMONT (1955). Ces résultats ont été confirmés par CARVALHEIRA et PEARSE (1967). Le Rat est un matériel d'étude moins favorable, car il existe aussi des estérases non spécifiques dans les cellules folliculaires (CARVALHEIRA et PEARSE, 1967 ; GAUGUIN et coll., 1973).

D'autre part, les cellules parafolliculaires de la thyroïde du Chien sont capable de fixer le 5 hydroxytryptophane, de le transformer en 5 hydroxytryptamine et de le stocker sous cette forme (PEARSE et coll., 1966). De ce fait, les cellules "C" après congélation et traitement aux vapeurs de formaldéhyde émettent une fluorescence spontanée verte.

B - Ultrastructure des cellules "C"

Le mode de fixation influence beaucoup l'aspect ultrastructural des cellules parafolliculaires (DUBOIS et DUMONT, 1966 ; STOECKEL et PORTE, 1969). Après fixation osmiée seule, le cytoplasme des cellules parafolliculaires apparaît clair, les granulations sont peu denses aux électrons, leur membrane est plus ou moins éclatée. Après fixation à la glutaraldéhyde et post fixation osmiée, les cellules parafolliculaires sont plus difficiles à repérer, elles apparaissent plus sombres que les cellules folliculaires et montrent des signes d'activité propre avec stockage de grains de sécrétion.

L'étude ultrastructurale des cellules parafolliculaires de la thyroïde de mammifères autres que l'homme a été menée par plusieurs équipes (YOUNG et LEBLOND, 1963 ; DUBOIS et DUMONT, 1966 ; ERICSON, 1968 ; STOECKEL et PORTE, 1969 ; OLIVEREAU, 1970 ; PENG et coll., 1975). Le même travail a été réalisé sur la thyroïde humaine par TETELBAUM et coll. (1971) et CHAN et coll. (1971).

Les cellules claires se trouvent :

- soit en amas de trois ou quatre cellules entre les vésicules thyroïdiennes ; dans ce cas elles sont toujours entourées d'une lame basale (DUBOIS et DUMONT, 1966). Ce fait accrédite l'hypothèse de STUX et LEBLOND (1961, cf. supra),

- soit le plus souvent dans la paroi même des vésicules, entre les cellules folliculaires, à l'intérieur de la lame basale qui est commune aux cellules claires et aux cellules folliculaires. Les cellules claires n'ont jamais de contact avec la colloïde.

Dans les cellules parafolliculaires, l'appareil de Golgi est proéminent, le réticulum endoplasmique abondant, parfois dilaté en citerne, et l'ergastoplasme adopte une disposition lamellaire. Ces cellules sont riches en granules sécrétoires denses aux électrons dont le diamètre oscille selon les espèces entre 200 et 300 nm. Les grains sont accumulés à un pôle de la cellule. Il est possible de suivre leur formation à partir de la condensation de matériel dans les saccules golgiens. Ces grains contiennent le 5 hydroxytryptophane qui a été visualisé par autoradiographie chez la Souris (ERICSON, 1970). L'examen de fractions cellulaires préparées par centrifugation en gradient continu, aboutit à des résultats similaires chez le Mouton (ERICSON et coll., 1972). Le 5 hydroxytryptophane se trouve dans la fraction qui contient une forte densité en grains de sécrétion.

Les cellules parafolliculaires renferment aussi des grains très denses "zymogen-like" comme ceux qui existent dans les cellules folliculaires.

C - Le système A.P.U.D.

Les cellules parafolliculaires présentent un ensemble de caractéristiques ultrastructurales et histochimiques qu'elles partagent avec d'autres cellules de l'organisme. PEARSE (1969) eut l'idée de regrouper tous les éléments cellulaires qui partagent certains caractères communs en un système dit A.P.U.D. (Amine content, Precursor Uptake and Decarboxylation).

1° - Définition

La notion d'un système endocrinien diffus n'est pas nouvelle. Il fut évoqué pour la première fois par FEYRTER (1953), la description histologique a été complétée par PAGES (1974). Le système A.P.U.D. de PEARSE ne se superpose pas exactement au système endocrinien diffus de FEYRTER.

a - Morphologie

Les cellules A.P.U.D. sont enclavées entre des éléments épithéliaux différents d'elles, et reposent sur une lame basale qui leur est commune, tandis que leur pôle apical n'atteint pas toujours la lumière de l'organe ou la cavité sécrétoire.

b - Histochimie

Les cellules A.P.U.D. répondent à sept critères précis (PEARSE, 1969). Elles doivent :

- A - contenir des Amines fluorogènes (5 hydroxytryptamine, catécholamines ou autres),
- P - "amine Precursor Uptake" = fixer les précurseurs des
- U amines (5 hydroxytryptophane - Dopa),
- D - posséder une amino-acide-Decarboxylase,
 - contenir une estérase (non spécifique ou une cholinestérase),
 - renfermer de l' α -G.P.D. (α -glycérophosphate menadione-réductase),
 - présenter une immunofluorescence spécifique,
 - le polypeptide synthétisé doit comporter un groupement latéral carboxyl ou carboxylamide (métachromasie masquée).

Ces différents caractères reflètent la production et l'accumulation de la protéine précurseur de l'hormone.

Ces ressemblances ne peuvent être fortuites et PEARSE (1969) formule trois hypothèses :

- 1 - Etant d'origines diverses, ces cellules élaborent des mécanismes biochimiques similaires pour la production de produits identiques.
- 2 - Etant d'origines diverses, elles répondent aux mêmes stimuli sécrétoires (aminergiques ou cholinergiques) par des mécanismes biochimiques semblables.
- 3 - Elles ont un antécédent embryologique commun, et ont maintenu un ensemble commun de fonctions ancestrales.

PEARSE estime que le troisième postulat est le plus plausible, et dans ce cas un seul ancêtre est possible "la cellule de la crête neurale". Les cellules A.P.U.D. seraient donc d'origine ectodermique.

2° - Appartenance des cellules parafolliculaires au système A.P.U.D.

Les cellules parafolliculaires de la thyroïde répondent à ces exigences.

- Leur aspect, leur localisation histologique, correspondent à la définition du système A.P.U.D. ; elles sont enclavées entre les cellules folliculaires, elles reposent sur une lame basale commune aux cellules parafolliculaires et aux cellules folliculaires, leur pôle apical n'atteint jamais la lumière des vésicules thyroïdiennes.

- Elles répondent aux critères histochimiques du système A.P.U.D. : activité acétylcholinestérasique, présence de 5 hydroxy-tryptophane, émission de fluorescence spontanée verte dans certaines conditions (cf. supra).

Les cellules parafolliculaires de la thyroïde sont donc des éléments du système A.P.U.D., elles présentent les caractéristiques ultrastructurales et histochimiques nécessaires et il reste à résoudre le problème de leur origine.

III - ORIGINE DES CELLULES "C"

A - Rappel de l'embryologie de la thyroïde

La thyroïde dérive d'une ébauche médiane et d'ébauches latérales.

Chez l'embryon humain, l'ébauche thyroïdienne médiane apparaît dans le champ mésobranchial de HIS. Au 17ème jour (stade 2 mm) le tubercule thyroïdien se forme à partir des cellules entoblastiques de l'épithélium du pharynx primitif. La dépression centrale de ce noyau, ou poche de BOCHDALECK, marque le début de l'évolution en profondeur. Au 24ème jour (stade 4 mm) l'ébauche thyroïdienne est reliée à l'épithélium pharyngien par un pédicule creux : le canal thyroéoglosse. La lumière du canal s'oblitére au 30ème jour (stade 7 mm) et, seul persiste le tractus thyroéoglosse. Les premiers vaisseaux apparaissent à la 8ème semaine.

Les ébauches latérales sont constituées par les cellules entoblastiques des poches branchiales latérales. Ces éléments dérivent, soit de la quatrième fente entoblastique (ou "complexe branchial IV" qui participe aussi à la formation des parathyroïdes supérieures), soit de la cinquième fente entoblastique (ou "corps ultimobranchial"). Par la suite, les ébauches latérales se mêlent intimement à l'ébauche médiane et ne sont plus individualisables. Depuis BORN (1883), on sait que chez tous les autres mammifères, les corps ultimobranchiaux fusionnent avec l'ébauche thyroïdienne.

L'origine entodermique des cellules folliculaires ne pose plus de problème depuis longtemps, alors que l'origine des cellules parafolliculaires est une connaissance récente. Puisque les cellules claires diffèrent franchement des cellules folliculaires du point de vue ultrastructural et histochimique, on peut imaginer une autre origine aux cellules parafolliculaires : soit elle dérivent des ébauches latérales, soit elles viennent d'ailleurs et migrent activement.

Chez le Lapin, on trouve des cellules cholinestérase-positives de type parafolliculaire dans les lobes thyroïdiens, dans les para-

thyroïdes internes, et dans la paroi des vestiges du canal thyroïdienne (DUMONT, 1956, 1958). Les cellules parafolliculaires sont allongées et présentent souvent un prolongement (PEARSE, 1969). Ces arguments topographiques et morphologiques incitent à penser qu'il s'agit d'emblée d'un deuxième type cellulaire distinct des cellules principales, qui serait capable de migration active et pourrait avoir une origine autre que l'épithélium du pharynx primitif : peut être le "complexe branchial IV" (DUMONT, 1958 ; DUBOIS et DUMONT, 1966).

B - Relations entre le corps ultimobranchial et les cellules "C"

La migration des cellules "C" à partir du corps ultimobranchial est suivie chez des rongeurs (Rat, Souris), grâce à la capacité de ces cellules de fixer et de décarboxyler le 5 hydroxytryptophane (PEARSE et CARVALHEIRA, 1967). La fluorescence spontanée émise permet de déceler leur dispersion à partir du massif ultimobranchial.

Au 12ème jour de gestation, la quatrième poche pharyngienne se scinde en deux massifs cellulaires :

- l'un ventral à l'origine des corps ultimobranchiaux,
- l'autre dorsal à l'origine des parathyroïdes.

La fluorescence est décelée dans l'ébauche ultimobranchiale dès le 12ème jour de gestation avant même que cette ébauche soit détachée du pharynx. Les auteurs nomment ces éléments fluorescents du massif ventral : cellules "C". A ce stade, aucune fluorescence n'est observée dans l'ébauche thyroïdienne.

Après le 16ème jour de gestation, les corps ultimobranchiaux fusionnent avec la thyroïde. Au 18ème jour de gestation, les ébauches sont intimement mêlées.

Les méthodes histologiques classiques mettent en évidence l'incorporation dans la glande de groupes cellulaires non colorés par le P.A.S.. La comparaison des données histologiques avec les résultats de l'étude en fluorescence, permet d'assimiler les cellules non marquées par le P.A.S., aux cellules fluorescentes, donc aux cellules "C" (PEARSE et CARVALHEIRA, 1967).

En somme, ce travail met en évidence dans la thyroïde de rongeurs (Rat, Souris), des cellules "C" qui stockent le 5 hydroxytryptophane et qui sont issues des corps ultimobranchiaux. Il est possible que les cellules "C" des corps ultimobranchiaux trouvent leur origine ailleurs que dans la quatrième poche pharyngienne, mais aucune précision supplémentaire ne peut être apportée, car le 10ème jour de gestation n'a pas été étudié (PEARSE et coll., 1967).

L'étude de coupes sériées semi-fines (colorées au P.A.S.-hémalun) et ultrafines (contrastées à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb étudiées en microscopie électronique) de la thyroïde du fœtus de Rat aboutit aux mêmes conclusions (STOECKEL et PORTE, 1970).

Au 17ème jour de gestation, le corps ultimobranchial est entièrement inclus dans la thyroïde. Les premiers signes d'activité sécrétoire, sont détectés en microscopie électronique sous forme de granules sécrétoires, dans quelques cellules du corps ultimobranchial.

Aux étapes suivantes du développement, le corps ultimobranchial se disloque, et les cellules ultimobranchiales migrent activement dans les cordons thyroïdiens : elles sont volumineuses et ont une forme étirée. La présence de nombreux tubules au niveau de leur prolongement est caractéristique des cellules soumises à un facteur mécanique de glissement.

Apparemment, les cellules "C" qui colonisent la thyroïde, viennent des corps ultimobranchiaux. Mais les cellules "C" peuvent avoir une distribution plus large (LE DOUARIN et LE LIEVRE, 1870), elles se trouvent classiquement :

- en position parafolliculaire dans les vésicules de la partie centrale des lobes thyroïdiens,

- mais aussi :

- . entre les follicules thyroïdiens chez différents mammifères,
- . dans le corps ultimobranchial des oiseaux,
- . en position atypique dans la paroi du canal thyroïdial, dans les parathyroïdes, le long des gros vaisseaux du cou, quelquefois dans le thymus.

Cette grande variété de localisations évoque la possibilité d'une autre origine plus lointaine.

C - Origine ectodermique des cellules "C"

Le cheminement des cellules "C" est suivi grâce à un marquage cellulaire naturel, basé sur les différences morphologiques entre les cellules interphasiques de Caille et de Poulet (LE DOUARIN et LE LIEVRE, 1970 ; 1971). Le noyau des cellules de Caille se présente avec une partie de sa chromatine condensée en un ou plusieurs amas, fortement colorés par la réaction de FEULGEN et ROSSENBECK. Le noyau des cellules de Poulet a une chromatine qui forme un réseau assez homogène coloré en rose pâle par la méthode de FEULGEN et ROSSENBECK. L'aspect différent de la chromatine permet aussi de différencier les cellules de Caille et de Poulet en microscopie électronique.

Des embryons de Poulet (au stade de 7 à 12 somites), après excision du tube neural et des crêtes neurales dans la région correspondant au rhombencéphale, reçoivent en position orthotopique, une greffe de fragment homologue de tube neural d'embryon de Caille au même stade de développement. Les embryons de Poulet opérés sont sacrifiés entre le cinquième et le onzième jour d'incubation.

Le tube nerveux greffé se soude aux tissus de l'hôte et poursuit son évolution.

Des cellules d'origine neurale s'introduisent dans les espaces interfolliculaires de l'ébauche thyroïdienne. La membrane basale des corps ultimobranchiaux disparaît et les cellules de Caille et de Poulet se mélangent. Quand la cicatrisation et l'incorporation du greffon sont bonnes, il n'apparaît pas de malformations dans la région du cou.

Des éléments, issus des crêtes neurales, colonisent l'ébauche épithéliale dérivant de la cinquième poche branchiale, et se différencient en cellules à calcitonine. Ces cellules dérivent probablement de l'ébauche neurale primitive rhombencéphalique (LE DOUARIN et LE LIEVRE, 1970 ; 1971). Les corps ultimobranchiaux ne sont pas la source des

cellules "C", mais représentent une zone d'attraction pour les cellules d'origine neurale en cours de migration.

Avant le stade de 12 somites, l'excision du tube neural de l'embryon de Poulet non suivie de greffe hétérospécifique, donne naissance à de nombreuses malformations, et les corps ultimobranchiaux ne contiennent pas de cellules "C". La même intervention, pratiquée après le stade de 12 somites, ne modifie pas les corps ultimobranchiaux et leur contenu en cellules "C". Après ce stade critique de 12 somites, les cellules neurales de l'embryon de Poulet ont déjà migré et colonisé les corps ultimobranchiaux. Les crêtes neurales ne sont plus indispensables au développement normal du corps thyroïde.

La preuve de la différenciation de cellules de la crête neurale en cellules "C", est confirmée en associant la technique des greffes hétérospécifiques avec une étude histochimique (LE DOUARIN et coll., 1974).

Les cellules "C" du corps ultimobranchial de l'embryon de Caille et de Poulet, émettent une fluorescence vert clair après injection de L-Dopa dès le 11ème jour d'incubation (cf. caractéristiques histochimiques des cellules A.P.U.D.). Des embryons de Poulet au stade de 6 à 10 somites, reçoivent une greffe hétérospécifique de l'ébauche neurale du rhombencéphale primitif d'embryon de Caille, puis une injection de L-Dopa. Ils sont sacrifiés entre le 11ème et le 16ème jour d'incubation.

Des cellules fluorescentes sont observées dans le corps ultimobranchial. Après application de la coloration de FEULGEN-ROSSENBECK sur les coupes préalablement étudiées en lumière ultra-violette, on constate que de nombreuses cellules de Caille colonisent le corps ultimobranchial de Poulet, et sont responsables de la fluorescence observée (LE DOUARIN et coll., 1974).

Cette expérience confirme la colonisation, par des éléments neurectodermiques, de l'ébauche entodermique de la cinquième poche

pharyngienne, et leur évolution en cellules à calcitonine.

Cependant, peut-on extrapoler aux mammifères, les résultats obtenus chez les oiseaux ?

Les analogies structurales et physiologiques entre cellules "C" du corps ultimobranchial des oiseaux et cellules parafolliculaires de la thyroïde des mammifères (STOECKEL et PORTE, 1967 ; 1968 ; 1969), autorisent cette assimilation, et plaident en faveur d'une origine commune des cellules "C" du corps ultimobranchial des oiseaux et de la thyroïde des mammifères.

L'origine neurale des cellules "C" du corps ultimobranchial des rongeurs, est établie grâce à une méthode histochimique, basée sur les propriétés des cellules A.P.U.D. (PEARSE et POLACK, 1971). Le corps ultimobranchial de l'embryon de Souris est colonisé au 9ème-10ème jour de gestation par des cellules venues de la crête neurale, capables de fluorescence spontanée après traitement aux vapeurs de formaldéhyde. Ce travail complète celui de PEARSE et CARVALHEIRA (1967) cité précédemment.

Actuellement, l'origine ectodermique des cellules "C" des mammifères est démontrée. Ce fait renforce l'hypothèse d'un ancêtre commun aux cellules du système A.P.U.D., qui serait issu de la crête neurale (PEARSE, 1969). Mais il est encore impossible de dire si toutes les cellules A.P.U.D. ont une origine ectodermique.

IV - LES CELLULES PARAFOLLICULAIRES CHEZ LE FOETUS HUMAIN

Les données bibliographiques sur les caractéristiques histologiques de la thyroïde du foetus humain sont rarissimes. La seule étude publiée des cellules parafolliculaires du foetus humain est strictement ultrastructurale (CHAN et CONEN, 1971). Elle suit d'après des critères morphologiques, l'origine des cellules parafolliculaires à partir de l'ébauche ultimobranchiale.

Chez le fœtus de 50 mm, il existe des cellules parafolliculaires immatures dans la région basale des follicules ultimobranchiaux qui sont incorporés dans la thyroïde. Au stade 65 mm, apparaissent quelques granules dans les cellules qui migrent entre les cellules folliculaires. Au stade 80 mm, les premiers follicules thyroïdiens s'organisent, et les cellules parafolliculaires occupent leur position définitive à l'intérieur de la lame basale des vésicules thyroïdiennes et les granules sécrétoires sont nombreux. Au stade 100 mm, les cellules parafolliculaires du fœtus possèdent toutes les caractéristiques ultrastructurales des cellules claires de l'adulte.

Chez le fœtus humain, comme chez les autres mammifères, les cellules "C" transitent dans l'ébauche ultimobranchiale. Elles occupent leur position parafolliculaire définitive dès l'apparition des premières vésicules. Chez le fœtus de 80 mm elles ont déjà une morphologie proche de celle des cellules "C" matures. Deux semaines plus tard (stade 100 mm) les cellules à calcitonine ont une ultrastructure en tout point comparable à celle des cellules "C" de l'adulte.

Il existe donc dans la thyroïde du fœtus humain, des cellules semblables aux cellules parafolliculaires de l'Homme adulte. Nous avons cherché à savoir si les cellules parafolliculaires fœtales possèdent les mêmes propriétés tinctoriales et histoenzymologiques que celles de l'adulte. Si la production de calcitonine commence pendant la gestation, et si oui, à partir de quel moment. Les études ont été menées chez le fœtus normal et chez l'anencéphale.

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS

PREMIER CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES

I - LES THYROIDES

Nous étudions 28 thyroïdes, provenant de foetus des deux sexes, qui sont le produit d'avortements spontanés ou thérapeutiques. L'âge gestationnel est évalué en fonction de la date des dernières règles, et de la dimension vertex-coccyx. Nous reportons ces données sur la courbe de croissance intra-utérine, établie d'après HAMILTON et coll. (1972), pour déterminer l'âge des foetus.

Nous explorons la thyroïde de 25 foetus normaux, d'âges gestationnels variés (tableau I). Nous disposons également de la thyroïde de 3 anencéphales :

- l'un âgé de 34 semaines,
- les deux autres au terme de la gestation (tableau II).

II - FIXATION ET REALISATION DES COUPES

Les prélèvements sont effectués de une à cinq heures après la mort. Chez le foetus de moins de 95 mm, il est impossible d'individualiser sans la lèser, la thyroïde, de l'ensemble trachée, parathyroïdes et quelquefois même du thymus. Chez le foetus de plus de 95 mm, une dissection plus fine sous loupe binoculaire est réalisable. Dans ce cas, la thyroïde est isolée des autres organes du cou; une moitié étant conservée pour l'étude cytologique, l'autre moitié étant rapidement congelée dans l'azote liquide, puis confiée à L. DAVID, et utilisée pour les dosages radio-immunologiques de calcitonine.

Les prélèvements sont traités selon deux protocoles différents

en fonction de leur devenir :

- ceux étudiés par des techniques histochimiques ou immunocytologique sont inclus en paraffine,
- ceux destinés à l'histoenzymologie sont fixés rapidement puis congelés.

A - Prélèvements inclus en paraffine

Les organes sont fixés le plus rapidement possible au Bouin Hollande sublimé :

Solution mère de Bouin Hollande	80 volumes
Formol neutre solution à 37 %	10 volumes
Bichlorure de mercure en solution aqueuse saturée	10 volumes

Les prélèvements séjournent 24 à 48 heures dans le milieu de fixation, puis sont rincés abondamment à l'eau courante, deshydratés à l'alcool à des concentrations croissantes, et inclus en paraffine.

La thyroïde est orientée dans le bloc pour que le plan de coupe soit :

- frontal dans la majorité des cas,
- horizontal le reste du temps.

On réalise des coupes sériées de 4 à 5 microns d'épaisseur, grâce à un microtone rotatif. Elles sont montées avec de l'eau gélatinée à 0,5 %, sur des lames dégraissées, lavées, séchées, puis mises à l'étude à 37°C pendant une nuit.

Après déparaffinage, les lames sont plongées dans l'alcool à 95° iodé à 2 %, afin d'éliminer toutes traces de sublimé, puis blanchies par une solution de métabisulfite de sodium à 5 %. Les coupes sont ensuite très soigneusement lavées à l'eau courante, pour éliminer complètement le métabisulfite, puis rincées à l'eau distillée.

B - Traitement des prélèvements destinés à la coupe en congélation

La thyroïde est fixée pendant une heure par du formol froid à 10 % dans du tampon phosphate 0,1 M - pH : 7, 6. Chaque lobe thyroïdien est coupé longitudinalement pour favoriser la pénétration rapide du fixateur. Le prélèvement est rincé pendant trois heures dans plusieurs bains de tampon phosphate froid ; puis incubé dans une solution de sucrose 0,4 M dans du tampon phosphate. Chaque demi-lobe thyroïdien est recouvert d'une goutte de la même solution sucrée pour éviter la dessiccation et congelé dans l'enceinte du cryostat à -22°C.

Des coupes séries de 8 microns d'épaisseur, sont réalisées grâce au cryostat et montées sur des lames parfaitement propres, préalablement enduites d'eau gélatinée à 0,5 %.

III - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET HISTOENZYMOLOGIQUES

Nous avons localisé les cellules parafolliculaires grâce à trois techniques :

- une coloration de routine : le trichrome de MASSON,
- la recherche de leur argyrophilie,
- la mise en évidence de leur activité cholinestérasique.

A - Trichrome de MASSON

Les coupes déparaffinées sont amenées à l'eau distillée, puis on applique la technique suivante :

1 - Colorer les noyaux trente secondes à deux minutes par l'hématoxyline de GROAT.

2 - Rincer à l'eau courante et différencier si nécessaire par l'alcool chlorhydrique ;

Bien laver les coupes à l'eau courante jusqu'à obtention d'une teinte bleue foncée des noyaux.

3 - Plonger les lames pendant une minute dans l'éosine à 1 %.

4 - Sans laver, recouvrir les lames par le ponceau de xylinid acétifié ; laisser colorer quelques secondes à une minute.

5 - Laver à l'eau courante, puis différencier par l'acide phosphomolybdique à 1 %.

6 - Sans laver, recouvrir les lames par le bleu d'aniline acétifié ; laisser colorer quelques secondes à une minute.

7 - Laver à l'eau courante et différencier par l'eau acétifiée à 1 %.

8 - Bien laver à l'eau courante, deshydrater et monter au D.P.X.

Préparation des produits :

1 - Hématoxyline de GROAT :

Solution stock A :

eau distillée	50 ml.
alun de fer et d'ammonium	1 g.
acide sulfurique pur	0,8 ml.

Solution stock B :

alcool éthylique 95°	50 ml.
hématoxyline	0,5 g.

Mélanger les deux solutions en proportion égale ; laisser reposer trente minutes ; filtrer. Ce mélange ne se conserve que quelques mois.

2 - Ponceau de xyloidine acétifié :

eau distillée	100 ml.
ponceau de xyloidine	1 g.
acide acétique pur	1 ml.

3 - Bleu d'aniline acétifié :

eau distillée	100 ml.
bleu d'aniline	0,5 g.

Porter à ébullition, laisser refroidir et filtrer ; ajouter :

acide acétique	8 ml.
----------------	-------

Utilisation : solution mère	1 vol.
eau distillée	2 vol.

B - Imprégnation argentique : technique d'UNGEWITTER

Nous avons choisi la méthode d'UNGEWITTER car elle est réalisable après fixation au Bouin, d'exécution simple et facilement reproductible.

Les solutions suivantes sont utilisées :

Solution A (imprégnation)

nitrate d'argent 1 %	100 ml.
urée	20 à 30 g.
cyanure mercurique 1 % dans de	1 à 3 g.
l'acide picrique à 1 %	

Le pH est ajusté entre 5,6 et 6 avec l'acide picrique.

Solution B (réduction)

ajouter dans l'ordre :

eau distillée	100 ml.
urée	20 à 30 g.
sulfite anhydre de sodium	10 g.
hydroquinone	1 à 2 g.

Vérifier le pH ; il doit être de l'ordre de 9,2 à 9,4.

Technique :

- 1 - Déparaffinage des coupes, stockage dans l'alcool à 70°.
- 2 - Imprégnation : une heure trente à 60°C dans la solution A.
Immerger les lames dans la solution chaude.
- 3 - Rinçage rapide dans l'eau distillée chauffée préalablement (prévoir un flacon à l'étuve).
- 4 - Réduction : trois à cinq minutes dans la solution B, à température ambiante. Agiter doucement les lames pendant la réduction.
- 5 - Rinçage très soigneux dans quatre à cinq bains d'eau distillée.
- 6 - Contrôle sous microscope : si la coloration est insuffisante répéter à partir de 2, avec des temps d'imprégnation courts (15 minutes environ).
- 7 - Deshydratation et montage au D.P.X.

C - Histoenzymologie

Nous étudions l'activité cholinestérasique des cellules parafolliculaires par la méthode de KARNOVSKY et ROOTS (1964).

Cette technique présente plusieurs avantages :

- 1 - la réaction est produite directement, sans traitement par le sulfure d'ammonium,
- 2 - le précipité obtenu est fin,
- 3 - la réaction est très sensible.

Bain d'incubation :

A 5 mg d'iodure d'acétylthiocholine (Sigma) dissous dans 6,5 ml. de tampon maléate pH 6,5, on ajoute dans l'ordre en agitant :

citrate de sodium 0,1 M	0,5 ml.
sulfate de cuivre 30 mM	1 ml.
eau distillée	1 ml.
ferricyanure de potassium 5 mM	1 ml.

Le bain d'incubation vert clair se conserve plusieurs semaines au réfrigérateur.

Les coupes, dès leur réalisation au cryostat (cf. supra), sont plongées dans le milieu d'incubation et laissées une quinzaine d'heures à +4°C.

Après incubation, les coupes sont rincées soigneusement dans du sucrose 0,4 M froid, puis montées dans une goutte de glycérine et observées au microscope LEITZ équipé d'oculaire Périplan.

La spécificité de la réaction est contrôlée :

- par la réalisation d'un milieu d'incubation sans substrat,
- par l'adjonction au milieu d'incubation d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase : l'ésérine.

Le millilitre d'eau distillée est remplacé par 1 ml. d'une solution de sulfate d'ésérine 10^{-2} M. Si la réaction est négative, le

tissu contient une cholinestérase spécifique, si le précipité brun apparait néanmoins, il s'agit d'estérase non spécifique.

IV - IMMUNOCYTOLOGIE

A - Sérums utilisés

1° - Sérum anti-calcitonine

Le sérum anti-calcitonine (sérum anti-hCT) nous a été fourni par L. DAVID (Service de pédiatrie, pavillon S bis, Hôpital Edouard Herriot, Lyon) et C.S. ANAST (Université du Missouri, Columbia, U.S.A.).

Il est obtenu par immunisation d'une Chèvre à partir de calcitonine humaine synthétique non couplée.

2° - Sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre, marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne (Institut Pasteur, Paris).

B - Technique d'immunofluorescence indirecte

On utilise une méthode d'immunofluorescence indirecte sur coupes réhydratées (fig. 4).

Les coupes sont incubées dix minutes à température ambiante en présence de sérum de Mouton normal, afin d'éliminer toute réaction ultérieure sur des sites non spécifiques, puis le sérum anti-calcitonine est déposé sur les coupes. On l'utilise dilué au 1/200 dans du tampon Tris-salé (Tris-hydroxyméthyl amino-méthane 0,05 M à 9 % en NaCl, pH : 7,6). On ajoute 1 % de sérum albumine humaine.

L'incubation se prolonge une vingtaine d'heures à +4°C en atmosphère saturée d'humidité.

Les lames sont rincées quarante cinq minutes à température ambiante dans cinq bains successifs du même tampon, puis les coupes sont incubées une heure à température ambiante en présence de sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne

dilué au 1/50 dans du tampon Tris-salé contenant 1 % de sérum albumine humaine. Après trois rinçages soigneux au tampon Tris-salé, on contre-colore par une solution au bleu d'Evans à 1/10 000. Après un nouveau rinçage, les coupes sont montées dans une goutte de glycérine tamponnée, et sont étudiées en lumière ultra-violet à l'aide d'un microscope LEITZ équipé d'un système PLOEM, muni d'un filtre BG₁₂, la source de rayon ultra-violet étant une lampe HBO_{50 w.}.

C - Contrôle de la spécificité de la réaction immunocytoologique

Afin d'éliminer toute source de fluorescence autre que le sérum anti-calcitonine, chaque étape de la réaction est réalisée isolément :

- 1 - incubation en présence de sérum de Mouton normal non immunisé,
- 2 - incubation en présence de sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne,

La spécificité de l'anticorps anti-hCT est contrôlée par l'étude de l'inhibition de la réaction immunocytoologique après incubation de l'anticorps en présence d'antigènes homologue et hétérologues (fig. 5). L'anticorps est incubé une heure à 37°C avec l'antigène homologue, le mélange est agité régulièrement tous les quarts d'heure. Pendant l'incubation l'anticorps se combine à l'antigène homologue. Quand on dépose le mélange anticorps + antigène homologue sur les coupes, la réaction ne doit pas se produire. L'anticorps ne peut plus se fixer sur les sites antigéniques des cellules du tissu étudié, car tous les sites de l'anticorps sont déjà occupés : la réaction est inhibée (fig. 5, A).

L'anticorps est incubé une heure à 37°C avec chacun des antigènes hétérologues. Si l'anticorps est spécifique de la substance contre laquelle il est dirigé, il ne se lie avec aucun autre antigène. Quand on dépose sur des coupes le mélange anticorps + antigène hétérologue, la réaction immunocytoologique doit se produire normalement car tous les sites de l'anticorps sont restés libres : il n'y a pas d'inhibition (fig. 5, B).

Notre but est de contrôler la spécificité du sérum anti-calcitonine. Il faut noter que plusieurs coupes sériées sont montées sur la même lame. Sur une coupe on dépose l'anticorps seul utilisé à sa dilution habituelle (1/200), sur la coupe voisine, le mélange anticorps + antigène que l'on veut tester, sur la troisième, l'anticorps seul et ainsi de suite. Cette méthode permet de comparer les résultats obtenus sur des champs homologues.

Nous avons étudié l'effet de plusieurs antigènes :

- celui de l'antigène homologue : la calcitonine humaine synthétique, testée à deux doses :

- . 800 µg. par millilitre de sérum immun pur,
- . 2 mg. par millilitre de sérum immun pur.

- celui de différents antigènes hétérologues, utilisés dans la proportion de 2 mg. d'antigène hétérologue par millilitre d'anticorps pur.

Les antigènes hétérologues testés sont les suivants :

- la thyroxine : DL-thyroxine sodique en solution à 0,2 %
1 ml. = 30 gouttes = 2 mg.
- la parathormone
- la somatostatine (donnée par le Professeur GUILLEMIN, Salk Institute, La Jolla).

Le sérum anti-calcitonine dilué au 1/200 dans du tampon Tris-salé est incubé une heure à 37°C avec chaque antigène. Ensuite la manipulation se déroule selon le protocole décrit précédemment.

DEUXIEME CHAPITRE : RESULTATS

La spécificité remarquable de la technique immunocyto-
gique, nous amène à exposer d'abord les observations faites avec cette
méthode. Nous développerons ensuite les résultats obtenus avec les
autres techniques.

I - RESULTATS DE L'ETUDE IMMUNOCYTOLOGIQUE

A - Chez le fœtus normal

Nous n'observons jamais de cellules immunoréactives avec
le sérum anti-calcitonine dans les sept thyroïdes de fœtus âgés de
10,5 à 13,5 semaines de vie intra-utérine (dimension vertex-coccyx de
45 à 75 mm) (tableau I). A ce stade de développement, les vésicules
thyroïdiennes ne sont pas encore formées, la thyroïde se présente
comme un massif plein indifférencié.

Chez le fœtus à 14 semaines de gestation (dimension vertex-
coccyx 80 mm), les premières vésicules thyroïdiennes apparaissent à
la périphérie des lobes, alors que la partie centrale de la glande est
constituée de cordons cellulaires (Pl. I , fig. A). Le dépôt de sérum
anti-calcitonine sur les coupes de thyroïde à ce stade, révèle la pré-
sence de cellules immunoréactives. Les cellules fluorescentes se trou-
vent au sein des cordons cellulaires. Elles sont rares : une à deux
cellules par coupe horizontale intéressant le tiers moyen des lobes
(Pl. I, fig. A ; Pl. II, fig. A, A').

Le seuil d'apparition des cellules immunoréactives avec le
sérum anti-calcitonine se situe à la 14ème semaine de gestation.

La réaction fluorescente est constamment positive sur les 17 thyroïdes de foetus âgés de plus de 14 semaines de vie intra-utérine, explorées (tableau I).

Au fur et à mesure du développement, les cordons cellulaires de la région centrale des lobes thyroïdiens se différencient en vésicules ; les cellules fluorescentes se trouvent à leur voisinage (Pl. I, fig. A, B ; Pl. II, fig. B). Quand l'organisation vésiculaire de la thyroïde est en place, les cellules immunoréactives occupent une position interfolliculaire pour quelques-unes d'entre elles, mais le plus souvent parafolliculaires, et n'atteignent jamais la lumière des vésicules (Pl. II, fig. C). Elles sont ovalaires, certaines présentent un prolongement et leur noyau est volumineux. Les cellules folliculaires ne sont jamais fluorescentes.

Nous avons cerné la répartition des cellules immunoréactives dans la thyroïde, par des coupes frontales et des coupes horizontales (fig. 6). Les cellules marquées sont distribuées dans la partie centrale du tiers moyen des lobes. Elles ne se trouvent jamais dans les extrémités supérieures ou inférieures des lobes, ni dans l'isthme, ni à la périphérie de la glande immédiatement sous la capsule. Les cellules fluorescentes sont d'autant plus nombreuses sur chaque coupe intéressant leur zone de distribution, que les foetus sont plus âgés. Dans quelques cas les parathyroïdes et le thymus ont été coupés en même temps que la thyroïde, mais nous n'avons jamais observé de cellules fluorescentes ailleurs que dans les lobes thyroïdiens.

La localisation, l'aspect, le nombre des cellules fluorescentes, sont indépendants du sexe.

B - Chez l'anencéphale

Dans la thyroïde de chacun des trois anencéphales étudiés, le sérum anti-calcitonine révèle des cellules immunoréactives parafolliculaires ou interfolliculaires (tableau II ; Pl. I, fig. D ; Pl. II, fig. D).

Elles paraissent aussi nombreuses que chez le foetus normal, occupent la même position et se présentent sous la même forme étirée avec un gros noyau.

C - Etude de la spécificité de la réaction

Aucune réaction ne se produit quand les coupes de thyroïde sont incubées soit en présence de sérum de Mouton normal, soit en présence de sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne, employés seuls.

Après incubation de l'anticorps en présence de calcitonine humaine synthétique, utilisée à raison de 800 μ g. par millilitre de sérum immun pur, l'inhibition de la réaction immunocyto logique est complète (tableau III ; Pl. III, fig. A, B). Aucun des antigènes hétérologues testés (thyroxine, parathormone, somatostatine) n'inhibe la réaction immunocyto logique (tableau III ; Pl. III, fig. C, D, E, F, G, H).

II - ETUDE HISTOLOGIQUE

A - Trichrome de MASSON

Il existe des cellules claires après coloration au trichrome de MASSON chez le foetus humain. Ces cellules s'observent déjà chez le foetus de 80 mm (14 semaines) mais elles sont rares, leur nombre augmente pendant toute la gestation. Elles se trouvent dans la partie centrale du tiers moyen des lobes latéraux. Ces cellules occupent une position parafo lliculaire, et sont enclavées entre les cellules fo lliculaires. Leur noyau est globuleux, plus gros que celui des cellules principales, leur cytoplasme n'atteint pas la lumière de la vésicule, mais fait saillie au pôle basal. Parfois les cellules claires sont groupées par trois ou quatre et dessinent un croissant. Si la coupe est tangentielle, elle détache ce croissant, et les cellules parafo lliculaires donnent l'impression d'être en position interfo lliculaire.

Les cellules claires de l'anencéphale ont le même aspect que celles du fœtus normal (Pl. I, fig. E).

B - Imprégnation argentique

Les cellules argyrophiles avec la technique d'UNGEWITTER s'observent en position inter ou parafolliculaire, elles sont ovalaires, leur prolongement est peu visible (Pl. IV, fig. A, B, C). Leur répartition dans la thyroïde est limitée à la partie centrale du tiers moyen des lobes latéraux. Les cellules argyrophiles occupent la même position par rapport aux vésicules thyroïdiennes, et sont réparties dans la même portion de thyroïde que les cellules fluorescentes avec le sérum anti-hCT, mais elles paraissent encore moins nombreuses.

C - Histoenzymologie

La recherche histochimique de l'activité cholinestérasique de la thyroïde fœtale montre deux types de formations :

- cellulaires :

On trouve des cellules de forme allongée, en position parafolliculaire ou interfolliculaire, sans contact avec la colloïde, localisées dans la partie centrale du tiers moyen des lobes thyroïdiens (Pl. V, fig. A, B, C). Il semble exister autant de cellules douées d'activité cholinestérasique que de cellules fluorescentes avec le sérum anti-hCT, par contre les cellules cholinestérase-positives sont plus nombreuses que les cellules argyrophiles.

- fibreuses :

On trouve des éléments nerveux périvasculaires qui forment un réseau dense autour des vaisseaux.

Aucune réaction n'a lieu quand le substrat, qui est l'acétylthiocholine manque dans le milieu d'incubation. La réaction est totalement inhibée par le sulfate d'ésérine.

Nous avons mis en évidence dans la thyroïde fœtale :

- des cellules immunoréactives avec le sérum anti-calcitonine,
- des cellules claires après coloration au trichrome de Masson,

- des cellules argyrophiles,
- des cellules acétylcholinestérase-positives.

Toutes ces cellules occupent une position inter ou para-folliculaire, et n'ont jamais de contact avec la colloïde. Elles ne sont pas distribuées de façon homogène dans la thyroïde, mais se trouvent le long de l'axe longitudinal du tiers moyen des lobes latéraux. Ces cellules sont rares chez le fœtus de 14 semaines, leur nombre s'accroît au cours de la gestation. Elles sont identiques chez le fœtus normal et chez l'anencéphale.

Ces quatre techniques marquent la même catégorie cellulaire : les cellules parafolliculaires.

Les cellules parafolliculaires fœtales ont donc les mêmes propriétés que celles de l'adulte.

TROISIEME CHAPITRE : DISCUSSION

Les cellules parafolliculaires du foetus humain sont comparables à celles de l'Homme adulte, mais pour les assimiler aux cellules à calcitonine de l'adulte il convient :

- d'établir la spécificité de la réaction immunocytoologique et de la réaction histoenzymologique,
- et de confronter les résultats obtenus chez le foetus avec ceux de l'adulte.

I - SPECIFICITE DE LA METHODE IMMUNOCYTOLOGIQUE

L'étude immunocytoologique n'a de valeur que dans la mesure où l'anticorps utilisé est spécifique de la calcitonine.

A - Etude radio-immunologique de l'anticorps

Utilisé dans un système de dosage radio-immunologique l'anticorps anti-calcitonine a une limite de sensibilité de 15 pg à une dilution de 1/80 000. Il n'a pas de réaction croisée (pas d'inhibition de la liaison anticorps-calcitonine marquée) avec les hormones suivantes : T_3 , T_4 , TSH, GH, insuline, ACTH, glucagon, ACTH et PTH bovine purifiée. Il donne normalement des valeurs non détectables (< 150 pg/ml) de calcitonine circulante chez le grand enfant et l'adulte (L. DAVID : communication personnelle).

B - Contrôle de la réaction immunocytoologique

Aucune réaction immunocytoologique ne se produit quand les coupes sont incubées en présence de sérum de Mouton normal seul. De même, le sérum de Lapin anti- γ -globulines de Chèvre marqué à l'isothiocyanate de fluoresceïne employé isolément, ne provoque aucune réaction

fluorescente. La réaction immunocytoologique est donc due à l'anticorps anti-calcitonine.

Le sérum anti-calcitonine étant préparé à partir de calcitonine humaine synthétique, il y a peu de risque de contamination par d'autres antigènes. Cependant il faut s'assurer de l'absence de réaction croisée entre l'anticorps anti-calcitonine et les autres hormones que la thyroïde est susceptible de contenir. Les tests réalisés montrent que seul l'antigène homologue inhibe la réaction. La réaction immunocytoologique n'est pas modifiée quand l'anticorps est incubé avec chacun des antigènes hétérologues testés. Ceci prouve l'absence de réaction croisée entre l'anticorps anti-calcitonine et la thyroxine, la parathormone, la somatostatine.

L'anticorps utilisé apparaît donc comme spécifique de la calcitonine, en conséquence, les cellules fluorescentes peuvent être considérées comme des cellules à calcitonine ou cellules "C".

II - SPECIFICITE DE LA REACTION ENZYMATIQUE

En l'absence d'acétylthiocholine dans le milieu d'incubation aucune réaction ne se produit, la réaction est donc directement liée à la présence du substrat.

La formation d'un précipité brun dans les cellules para-folliculaires, quand des coupes de thyroïde foetale sont incubées en présence d'acétylthiocholine, révèle l'existence d'une estérase dans ces cellules. Puisque l'ésérine inhibe totalement la réaction, il s'agit d'une estérase spécifique : l'acétylcholinestérase.

III - COMPARAISON DES RESULTATS AVEC LES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Chez le fœtus humain, les cellules à calcitonine, les cellules claires après coloration au trichrome de MASSON, les cellules argyrophiles et les cellules acétylcholinestérase-positives occupent la

même position interne du parafolliculaire. Ces propriétés sont caractéristiques des cellules parafolliculaires de l'adulte. Les cellules "C" du fœtus humain possèdent les mêmes caractères tinctoriaux et histoenzymologiques que celles de l'adulte. Les cellules "C" du fœtus sont les cellules parafolliculaires.

La localisation de la calcitonine dans les cellules parafolliculaires est commune aux différents mammifères, à l'Homme adulte, au nouveau-né et au fœtus humain.

La présence de calcitonine a été mise en évidence de façon indirecte par l'étude des variations morphologiques des cellules parafolliculaires du Rat, induites par les fluctuations expérimentales de la calcémie (ERICSON, 1968 ; STOBORIEL et PORTE, 1972), et de façon directe par immunocytochimie chez le Chien, le Porc (BUSSOLATI et PEARSE, 1967), l'Homme adulte et le nouveau-né (WOLFE et coll., 1974, 1975).

Les cellules à calcitonine ne sont pas réparties au hasard dans toute la thyroïde du fœtus mais se trouvent uniquement dans la partie centrale du tiers moyen des lobes latéraux. Cette distribution limitée des cellules "C" est identique à celle rencontrée chez le Rat (STUX et coll., 1961), chez l'Homme adulte (MAC MILLAN et coll., 1974 ; WOLFE et coll., 1974) et chez le nouveau-né (WOLFE et coll., 1975).

Les premières cellules "C" apparaissent chez le fœtus humain à la 14ème semaine de gestation (soit 80 mm de dimension vertex-coccyx). La spécificité de la méthode immunocytochimique est contrôlée. Ce résultat concorde avec celui de l'observation ultrastructurale des cellules parafolliculaires de la thyroïde fœtale humaine (CHAN et coll., 1971). Quelques granules sécrétoires apparaissent dans les cellules parafolliculaires du fœtus de 65 mm, leur densité est comparable à celle des cellules "C" de l'adulte chez le fœtus de 80 mm.

Les cellules "C" se multiplient jusqu'à la naissance, et sont dix fois plus nombreuses chez le nouveau-né que chez l'adulte, les taux de calcitonine étant dix fois plus élevés à la naissance que

chez l'Homme adulte (WOLFE et coll., 1975).

Le seuil d'apparition des cellules "C" à la 14ème semaine de gestation concorde avec les résultats des dosages radio-immunologiques de la calcitonine dans la thyroïde foetale humaine, réalisés par L. DAVID. Dès la 14ème semaine de vie intra utérine, la calcitonine est détectable dans la thyroïde et les taux augmentent nettement à partir de la 15ème semaine (L. DAVID : communication personnelle).

Les cellules "C" de l'anencéphale sont identiques aux cellules "C" du foetus normal : elles ont la même forme étirée, occupent la même position inter ou parafolliculaire, et sont réparties dans le tiers moyen des lobes latéraux, le long de l'axe longitudinal.

L'anencéphalie ne semble pas influencer l'ontogénèse des cellules à calcitonine. Ce phénomène trouve son explication dans la morphogénèse de l'anencéphalie expérimentale chez le Rat. En effet, dans cette malformation, l'ébauche rhombencéphalique se ferme normalement (GIROUD et coll., 1957), or il est prouvé chez l'oiseau, que les cellules "C" dérivent de cette ébauche (LE DOUARIN et coll., 1970, 1971). L'absence d'anomalie au niveau du rhombencéphale explique le développement harmonieux des cellules à calcitonine chez l'anencéphale. Ceci suggère que les cellules à calcitonine du foetus humain pourraient provenir de l'ébauche rhombencéphalique.

L'évolution morphologique et fonctionnelle des cellules parafolliculaires est aussi indépendante de l'hypophyse. En cas d'hypophysectomie (MILHAUD et coll., 1965) la teneur en calcitonine de la thyroïde est inchangée, alors que la fixation d'iode est devenue négligeable, il n'y a pas non plus de modification de la morphologie des cellules parafolliculaires, alors que les cellules folliculaires sont aplaties.

IV - RELATION ENTRE LES CELLULES "C" ET LA SOMATOSTATINE

Par méthode immunocytoologique, la somatostatine a été mise en évidence dans les cellules parafolliculaires du Rat (HOKFELT et coll., 1975 ; VAN NOORDEN et coll., 1977).

La somatostatine a été dosée par méthode radio-immunologique dans le tissu nerveux, le pancréas, l'antré gastrique, le colon et la thyroïde de Rat (KROHNE et coll., 1976). Le taux de somatostatine extraite de la thyroïde est proche de celui trouvé dans le pancréas.

L'étude en microscopie électronique de la calcitonine dans les cellules "C" du Rat, par immunoperoxydase indirecte montre que tous les granules des cellules "C" ne donnent pas une réaction positive. Il est possible que la calcitonine soit partiellement dénaturée, ou bien il existe dans les cellules parafolliculaires des granules sécrétant un autre peptide (THARAUD et coll., 1977).

Il ne nous a jamais été possible de mettre en évidence de la somatostatine dans les cellules parafolliculaires du fœtus humain, par immunofluorescence indirecte. La somatostatine utilisée dans les tests de spécificité ne modifie pas la fluorescence induite par le sérum anti-calcitonine.

La comparaison des résultats de l'étude immunocytoologique et de ceux de l'histochimie et de l'histoenzymologie, nous incite à penser que toutes les cellules parafolliculaires du fœtus humain sont des cellules à calcitonine. Mais il n'est pas exclu que certaines soient capables de synthétiser un deuxième peptide.

V - SIGNIFICATION FONCTIONNELLE

L'apparition précoce de la calcitonine dans les cellules parafolliculaires fœtales, et l'identité de nature de la calcitonine adulte démontrée par séparation sur colonne de Sephadex d'extraits de thyroïde fœtale (L. DAVID : communication personnelle), suggèrent

un rôle important de cette hormone pendant la vie intra-utérine. Il est possible que la calcitonine intervienne dans le processus d'ossification foetale des mammifères (STOECKEL et PORTE, 1970). Chez le foetus de Rat, la différenciation des cellules "C" coïncide avec l'apparition des premiers centres d'ossification (STOECKEL et coll., 1970 ; JOST, 1960). Cette corrélation n'existe pas chez le foetus humain, l'ossification débutant à la 8ème semaine (HAMILTON, 1972), alors que la calcitonine n'est décelable, par une méthode aussi sensible et spécifique que l'immunocytologie, qu'à partir de la 14ème semaine.

A l'heure actuelle, il est impossible de détecter la calcitonine circulante chez le foetus, par contre elle est dosable dès la naissance. Elle joue probablement un rôle étiologique dans les hypocalcémies néo-natales précoces, tout au moins chez les enfants de petit poids de naissance.

Il existe une corrélation négative entre les taux sériques de calcitonine et

- l'âge gestationnel,
- la calcémie,
- la parathormonémie.

La magnésémie, la phosphorémie, la protéinémie ne se modifient pas (DAVID et coll., 1977 ; SALLE et coll., 1977).

Les facteurs influençant la sécrétion de calcitonine sont encore très mal connus. Il paraît certain que l'hypocalcémie induit la sécrétion de calcitonine. Plusieurs autres facteurs sont capables de provoquer la libération de ce peptide hypocalcémiant après le repas (SWAMINATHAN, 1973) :

- la dilatation gastrique,
- la gastrine,
- le glucagon,
- la cholécystokinine.

La capacité de la gastrine et du glucagon à stimuler la pro-

duction de calcitonine n'est pas admise par tous (DAVID et coll., 1977 ; GAREL et coll., 1977), par contre, il semble qu'un gavage gastrique de triglycérides déclenche la libération de calcitonine (GAREL et coll., 1977).

Jusqu'à ce jour, l'influence des différentes hormones gastro-intestinales sur la sécrétion de calcitonine n'est pas démontrée avec certitude.

CONCLUSIONS

C O N C L U S I O N S

Chez le foetus humain, les cellules à calcitonine sont décelables par immunocytoologie à partir de la 14ème semaine. Elles adoptent une position parafolliculaire, et ont les mêmes caractéristiques histochimiques et histoenzymologiques que les cellules parafolliculaires de l'Homme adulte et des autres mammifères. Ces propriétés permettent de les assimiler aux cellules claires et de les rattacher au système des "A.P.U.D. - cells" de PEARSE. Les cellules "C" du foetus humain se localisent dans la partie centrale du tiers moyen des lobes latéraux comme chez l'adulte.

L'anencéphalie ne modifie pas l'ontogénèse des cellules à calcitonine.

La présence précoce de cellules à calcitonine suggère que cette hormone doit jouer un rôle important pendant la période foetale et néo-natale.

Permis d'imprimer : 17 AVR. 1973

Vu, le Président de Thèse
C. GIROD

Vu, le Doyen de la Faculté
J. NORMAND

Vu, le Président de l'Université
Président du C.C.E.M.
D. GERMAIN

R E S U M E

Les cellules à calcitonine de la thyroïde de 25 foetus humains normaux, et de 3 foetus humains anencéphales ont été étudiées :

1° - par immunocytologie, avec un sérum anti-calcitonine dont la spécificité est démontrée,

2° - par trois autres techniques histologiques : une coloration de routine qui est le trichrome de MASSON, une imprégnation argentique (méthode d'UNGEWITTER), et une méthode histoenzymologique de mise en évidence des cholinestérases (selon le protocole de KARNOVSKY et ROOTS).

Les cellules "C" apparaissent à la 14ème semaine. Elles sont d'abord isolée puis leur nombre augmente pendant toute la gestation. Avec la mise en place de l'organisation vésiculaire de la thyroïde, les cellules à calcitonine pénètrent dans la paroi des vésicules entre les cellules folliculaires et prennent leur position parafofolliculaire définitive. Elles sont localisées le long de l'axe longitudinal, dans le tiers moyen des lobes latéraux.

Les cellules "C" existent chez l'anencéphale et sont en tout point comparables à celles du foetus normal.

Les résultats de l'immunocytologie sont confirmés par les dosages radio-immunologiques : la calcitonine est décelable dans un broyat de thyroïde foetale à partir de la 14ème semaine, le taux d'hormone augmente nettement à partir de la 15ème semaine.

Les cellules à calcitonine du foetus humain ont les mêmes caractéristiques morphologiques, histochimiques et histoenzymologiques que celles de l'Homme adulte elles sont assimilables aux cellules parafofolliculaires et appartiennent au système A.P.U.D.

L'apparition précoce des cellules "C", et les taux sériques hormonaux élevés chez l'enfant à la période néo-natale, suggèrent l'importance de la calcitonine au cours de l'ontogénèse.

B I B L I O G R A P H I E

B I B L I O G R A P H I E

- ATAACK, C.V., ERICSON, L.B., MELANDER, A., 1972 - Intracellular distribution of amines and calcitonin in the sheep thyroid gland. J. Ultrastruct. Res., 41, 484-498.
- BABER, E.C., 1876 - Contribution to the minute anatomy of thyroid gland of dog. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B, Biol. Sci., 166, 557.
- BUGNON, C., MAURAT, J.P., LENEYS, D., MORLAU, N., ROUSSELET, F., 1967 - Etude de l'origine cytologique de la thyrocalcitonine chez des rats en hypervitaminose D. C. R. Soc. Biol., 161, 2363-2366.
- BUSSOLATI, G., PEARSE, A.G.E., 1967 - Immunofluorescent localization of calcitonin in the "C" cells of pig and dog thyroid. J. Endocrinol., 37, 205-209.
- CARVALHEIRA, A.F., PEARSE, A.G.E., 1967 - Comparative cytochemistry of "C" cell esterases in the mammalian thyroid-parathyroid complex. Histochemie, 8, 175-182.
- CHAN, A.S., COMEN, P.E., 1971 - Ultrastructural observations on cyto-differentiation of parafollicular cells in the human fetal thyroid. Lab. Invest., 25, 249-259.
- COPP, D.H., CAMERON, E.C., CHENEY, B.A., DAVIDSON, A.G.F., HENZE, K.G., 1962 - Evidence for calcitonin. A new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. Endocrinology, 70, 638-649.
- DAVID, L., ANAST, C.S., 1973 - Serum immunoreactive calcitonin (iCT) in newborn (Abstr.). Pediatr. Res., 7, 386.
- DAVIL, L., CHOPARD, P., GRAFMEYER, D.C., CHAYVIALLE, J.A., SALLE, B., Studies on the determinism of the neonatal hypercalcitoninemia. Effect of glucagon on serum levels of calcium, phosphorus, magnesium, calcitonin and parathyroid hormone in the low birth infants. (soumis pour public.)

- DAVID, L., SALLE, B., CHOPARD, P., KRAEMER, D.G., 1977 - Studies on circulating immunoreactive calcitonin in low birth weight infants during the first 48 hours of life. Helv. Paediat. Acta, 32, 39-48.
- DUBOIS, P., DUMONT, L., 1966 - Aspects ultrastructuraux des cellules parafolliculaires de la thyroïde du lapin en fonction de la nature du fixateur. C. R. Soc. Biol., 160, 2331-2338.
- DUMONT, L., 1955 - Activité cholinestérasiqne des cellules parafolliculaires de la thyroïde. C. R. Ass. Anat., 428 réunion Paris, Juillet, 480-485.
- DUMONT, L., 1955 - Localisation histochimique d'acétylcholinestérase dans la thyroïde de lapin. C. R. Acad. Sci. (Paris), 240, 1946-1948.
- DUMONT, L., 1956 - Les cellules parafolliculaires du lapin, leur rapport avec le canal thyroéglasse. Ann. Endocrinol., 17, 700-712.
- DUMONT, L., 1958 - Les catégories cellulaires épithéliales de la thyroïde du lapin. Nouvelles observations. C. R. Soc. Biol., 152, 790-792.
- DUMONT, L., 1958 - Phénomènes de sécrétion nucléaire observés dans la thyroïde de mammifères. C. R. Acad. Sci. (Paris), 246, 2667-2669.
- ERICSON, L.E., 1966 - Degranulation of the parafollicular cells of the rat thyroid by vitamin D₂-induced hypercalcemia. J. Ultrastruct. Res., 24, 145-149.
- ERICSON, L.E., 1970 - Subcellular localization of 5-hydroxytryptamine in the parafollicular cells of the mouse thyroid gland. An autoradiographie study. J. Ultrastruct. Res., 31, 162-177.
- ERKHOLM, R., ERICSON, L.E., 1968 - The ultrastructure of the parafollicular cells of the thyroid gland in the rat. J. Ultrastruct. Res., 23, 378-402.

- FALCK, B., LARSON, B., MERTZKEIDIG, C.H., ROHINGREN, E., SVENAEUS, K.,
1964 - On the presence of a second specific cell system in mammalian
thyroid gland. Acta Physiol. Scand., 64, 491-492.
- FOSTER, G.V., BAGHDIAITZ, A., KUMAR, M.A., SLACK, E., SOLIMAN, H.A.,
Mac INTYRE, I., 1964 - Thyroid origin of calcitonin. Nature (Lond.),
202, 1303-1305.
- GAREL, J.M., JULLIENNE, A., 1977 - Plasma calcitonin levels in pregnant
and newborn rats. J. Endocrinol., 75, 373-382.
- GAUGUIN, J., ROMERT, P., KIRKEBY, S., 1973 - Cytochemical demonstration
of cholinesterase in follicle cells and parafollicular (C) cells of
the rat thyroid gland. Histochemie, 34, 97-106.
- GIROD, C., 1968 - Leçons sur les glandes endocrines. Simep éditions
Lyon.
- GIROUD, A., MARTINET, M., 1957 - Morphogénèse de l'anencéphalie.
Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp., 46, 247-264.
- HAMILTON, W.J., BOYD, J.D., MOSSMAN, H.W., 1972 - Growth of the embryo
and fetus ; development of external form ; estimation of embryonic
and fetal age. In : Human Embryology - Prenatal development of form
and function. 4ème edition by Hamilton, W.J., and Mossman, H.W.
Cambridge : W. HEFFER and SONS LTD BALTIMORE, THE WILLIAMS and
WILKINS COMPANY. pp 174-191.
- HIRSCH, P.F., VOELKEL, E.F., MUNSON, P.L., 1964 - Thyrocalcitonin :
hypocalcemic hypophosphatemic principle of the thyroid gland. Science,
146, 412-413.
- HÖKFELT, T., EFENDIC, S., HEILBRÖM, C., JOHANSSON, O., LUFT, R.,
ARIMURA, A., 1975 - Cellular localization of somatostatin in endo-
crine-like cells and neurons of the rat with special references to
the A₁-cells of the pancreatic islets and to the hypothalamus. Acta
Endocrinol., 80, suppl. 200.

- JOST, A., MORREAU, G., FOURNIER, C.H., 1960 - Date et ordre d'apparition des premiers centres d'ossification chez le fœtus de rat normal ou soumis au propylthiouracile. Arch. Anat. Micr. Morphol. exp., 49, 431-458.
- KARNOVSKY, M.J., ROOTS, L., 1964 - A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterases. J. Histochem. Cytochem., 2, 219-221.
- KRONHEIM, S., BERNLOWITZ, M., FIMSTONE, B.L., 1976 - A radioimmunoassay for growth hormone release-inhibiting hormone method and quantitative tissue distribution. J. Clin. Endocrinol. Metab., 5, 619-630.
- LE DOUARIN, N., FONTAINE, J., LE LIEVRE, C., 1974 - New studies on the neural crest origin of the avian ultimobranchial glandular cells. Interspecific combinations and cytochemical characterization of C cells based on the uptake of biogenic amine-precursors. Histochemistry, 38, 297-305.
- LE DOUARIN, N., LE LIEVRE, C., 1970 - Démonstration de l'origine neurale des cellules à calcitonine du corps ultimobranchial chez l'embryon de poulet. C. R. Acad. Sci. (Paris), 270, 2857-2860.
- MILHAUD, G., 1976 - La Thyrocalcitonine. Encyclopédie médico-chirurgicale (Paris) 10 002 C⁴⁰ glandes endocrines.
- MILHAUD, G., MOUKHTAR, M.S., 1969 - Hypophysectomie et thyrocalcitonine. C. R. Acad. Sci. (Paris), 260, 3179-3182.
- MILHAUD, G., MOUKHTAR, M.S., BOURICHON, J., PERAULT, A.M., 1965 - Existence et activité de la thyrocalcitonine chez l'homme. C. R. Acad. Sci. (Paris), 261, 4513-4516.
- Mc MILLAN, P.S., HOOKER, W.M., DEFTOS, L.J., 1974 - Distribution of calcitonin-containing cells in the human thyroid. Am. J. Anat., 140, 73-80.

- NEHER, R., RINIKER, B., RITTEL, W., ZUBER, H., 1968 - Human calcitonin III structure of calcitonin M and D. Helv. Chim. Acta, 51, 1900-1905.
- NEHER, R., RINIKER, B., ZUBER, H., RITTEL, W., KAHNT, F.W., 1968 - Thyrocalcitonin II Struktur von α -Thyrocalcitonin. Helv. Chim. Acta, 51, 917-924.
- NONIDEZ, J.F., 1932 - The origin of the "parafollicular" cells, a second epithelial component of the thyroid of the dog. Am. J. Anat., 49, 479-505.
- OLIVEREAU, M., 1970 - Données cytologiques et auto-radiographiques sur la glande thyroïde de quelques Mammifères hibernants. Activité thyroïdienne et présence de cellules "C" à calcitonine. Z. Zellforsch., 107, 374-402.
- PAGES, A., 1974 - Le système endocrinien diffus (SED). Ann. Anat. Path., 19, 335-351.
- PEARSE, A.G.E., 1966 - 5-hydroxytryptophan uptake by dog thyroid C cells and its possible significance in polypeptide hormone production. Nature (Lond.), 211, 598-600.
- PEARSE, A.G.E., 1969 - The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cells of the APUD cells series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. J. Histochem. Cytochem., 17, 303-313.
- PEARSE, A.G.E., CARVALHEIRA, A.F., 1967 - Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of rodent thyroid C cells. Nature (Lond.), 214, 929-930.
- PEARSE, A.G.E., POLAK, J.M., 1971 - Cytochemical evidence for the neural crest origin of mammalian ultimobranchial C-cells. Histochemie, 27, 96-102.

- PENG, T.C., COOPER, C.W., PETRUSZ, P., VOLPERT, E.M., 1975 - Identification of C-cells in normal and goitrous rat thyroid tissues using antiserum to rat thyrocalcitonin and the immunoperoxidase bridge technique. Endocrinology, 97, 1537-1544.
- SALLE, B., DAVID, L., CHOPARD, F., GRAFMEYER, D.C., RENAUD, H., 1977 - Prevention of early neonatal hypothalamia in low birth weight infants with continuous calcium infusion. Ped. Res., in press.
- SARKAR, S.K., ISLER, H., 1963 - Origin of the "light cells" of the thyroid gland. Endocrinology, 73, 199-204.
- SHEPARD, T.H., ANDERSEN, H.J., ANDERSEN, H., 1964 - The human fetal thyroid. I - Its weight in relation to body weight, crown-rumplength, foot length and estimated gestation age. Anat. Rec., 148, 123-128.
- SHEPARD, T.H., ANDERSEN, H., ANDERSEN, H.J., 1964 - Histochemical studies of the human fetal thyroid during the first half of fetal life. Anat. Rec., 149, 363-380.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1967 - Sur l'ultrastructure des cellules parafolliculaires de la thyroïde de quelques mammifères et l'existence de cellules analogues dans les corps ultimobranchiaux du pous-sin. C. R. Soc. Biol. (Paris), 161, 2040-2043.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1968 - Observations ultrastructurales sur le développement des corps ultimobranchiaux du poulet. C. R. Ass. Anat., 143, 1618-1624.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1969 - Observations ultrastructurales sur la parathyroïde et les cellules parafolliculaires de la thyroïde de quelques mammifères. C. R. Ass. Anat., 145, 362-370.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1969 - Etude ultrastructurale des corps ultimobranchiaux du poulet. I - Aspect normal et développement embryonnaire. Z. Zellforsch., 94, 495-512.

- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1969 - Localisation ultimobranchiale et thyroïdienne des cellules C (cellules à calcitonine) chez deux Columbidae : le pigeon et le tourtereau. Etude au microscope électronique. Z. Zellforsch., 102, 376-386.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1970 - Origine embryonnaire et différenciation sécrétoire des cellules à calcitonine (cellules C) dans la thyroïde foetale du rat. Etude au microscope électronique. Z. Zellforsch., 106, 251-268.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., 1972 - Influence des variations expérimentales de la calcémie sur la morphologie fine des cellules C du rat et du poulet. Z. Zellforsch., 128, 347-365.
- STUX, M., THOMPSON, B., ISLER, H., LEBLOND, C.P., 1961 - The "light cells" of the thyroid gland in the rat. Endocrinology, 68, 292-308.
- SWAMINATHAN, R., BATES, R.F.L., BLOOM, S.R., GANGULI, P.C., CARE, A.D., 1973 - The relationship between food, gastro-intestinal hormones and calcitonin secretion. J. Endocrinol., 59, 217-230.
- TAVARES de SOUSA, A., CARVALHEIRA, A.F., 1968 - Sur la caractérisation des cellules dites parafolliculaires dans la thyroïde. C. R. Ass. Anat., 143, 1636-1640.
- TEITELBAUM, S.L., MOORE, K.E., SHIEBER, W., 1971 - Parafollicular cells in the normal human thyroid. Nature (Lond.), 230, 334-335.
- VAN NOORDEN, S., POLAK, J.M., PEARSE, A.G.E., 1977 - Single cellular origin of somatostatin and calcitonin in the rat thyroid gland. Histochemistry, 53, 243-247.
- WOLFE, H.J., DELELLIS, R., VOELKEL, E.F., TASHJIAN, A.H., 1975 - Distribution of calcitonin-containing cells in the normal neonatal human thyroid gland : A correlation of morphology with peptide content. J. Clin. Endocrinol. Metab., 41, 1076-1081.

WOLFE, H.J., VOELKEL, E.F., TASHJIAN, A.H., 1974 - Distribution of calcitonin-containing cells in the normal adult human thyroid gland : a correlation of morphology with peptide content. J. Clin. Endocrinol. Metab., 38, 688-694.

YOUNG, B.A., LEBLOND, C.P., 1963 - The light cell as compared to the follicular cell in the thyroid gland. Endocrinology, 73, 669-686.

T A B L E A U X , F I G U R E S E T P L A N C H E S

Tableau I : Foetus normaux étudiés en immunocytochimie

Foetus	Dimension vertex-coccyx (mm)	Age gestationnel (semaines)	Résultats
1213	45	10, 5	0
1172	45	10, 5	0
1090	55	11, 5	0
1165	60	12	0
1155	65	12, 5-13	0
1189	70	13, 5	0
1136	75	13, 5-14	0
1105	80	14	+
1146	85	14, 5	+
1068	85	14, 5	+
1309	95	15, 5	+
1176	105	16, 5	+
1260	110	17	+
1307	125	18	+
1308	125	18	+
1026	130	18, 5	+
1113	140	19, 5	+
1093	140	19, 5	+
1131	150	20	+
1337	150	20	+
1040	155	20, 5	+
1061	175	22	+
1005	190	23, 5	+
1063	205	24, 5	+
1094	245	27	+

Tableau II : Foetus anencéphales étudiés en immunocytochimie

:	:	:	:
:	Foetus	: Age gestationnel	Résultats
:	:	:	:
:	1306	: 34 semaines	+
:	1074	: à terme	+
:	1110	: à terme	+
:	:	:	:

Tableau III : Etude de l'inhibition de la réaction immunofluorescente par incubation de l'anticorps avec les antigènes homologue et hétérologues.

Antigènes	Evolution de la réaction
Calcitonine	
800 μ g	-
2 mg	-
Thyroxine	
2 mg	+
Parathormone	
2 mg	+
Somatostatine	
2 mg	+

(+) : pas d'inhibition de la réaction

(-) : inhibition à 100 % de la réaction

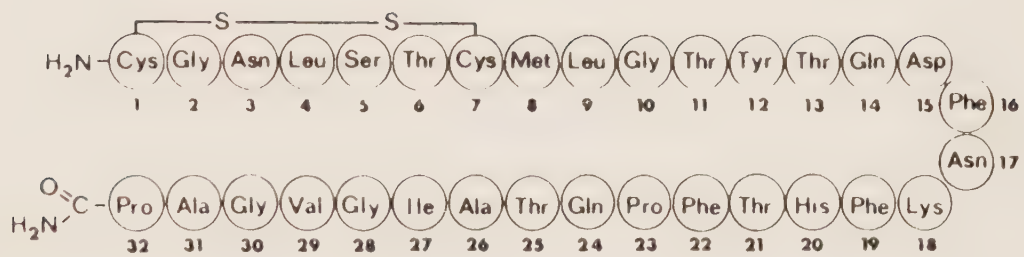


Figure 1

Structure de la calcitonine humaine (d'après MILHAUD, 1976).

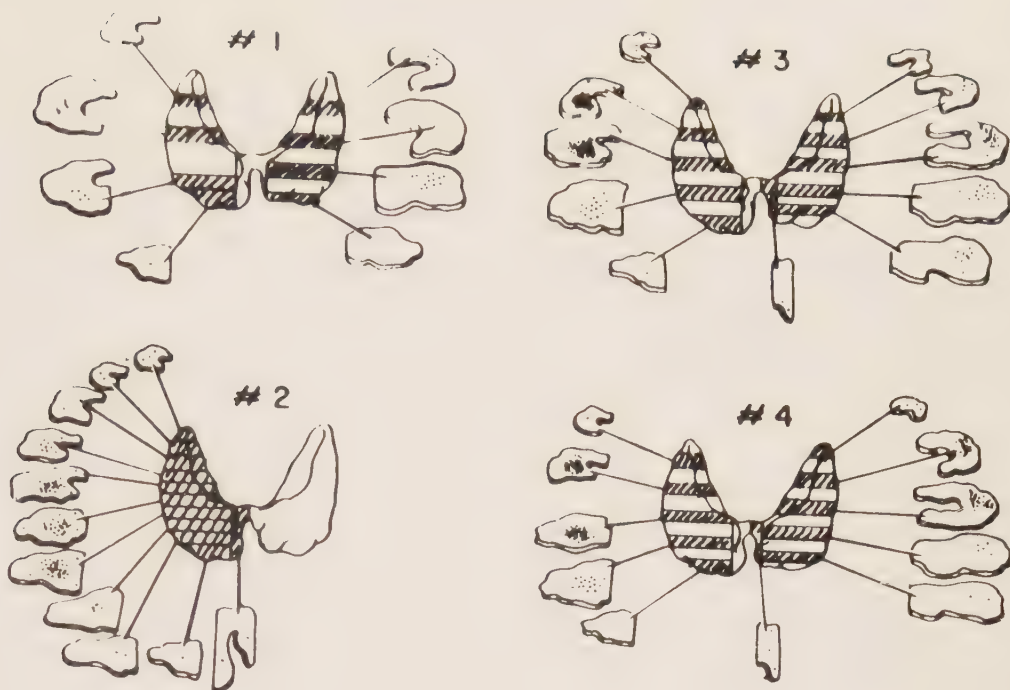
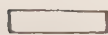


Figure 2

Schéma de la distribution des cellules "C" dans la thyroïde humaine adulte. La répartition des cellules "C" est comparée au taux de calcitonine détecté par dosage radio-immunologique dans la tranche de section immédiatement adjacente. (d'après WOLFE et coll., 1974).



tranche de glande étudiée en immunocytologie.

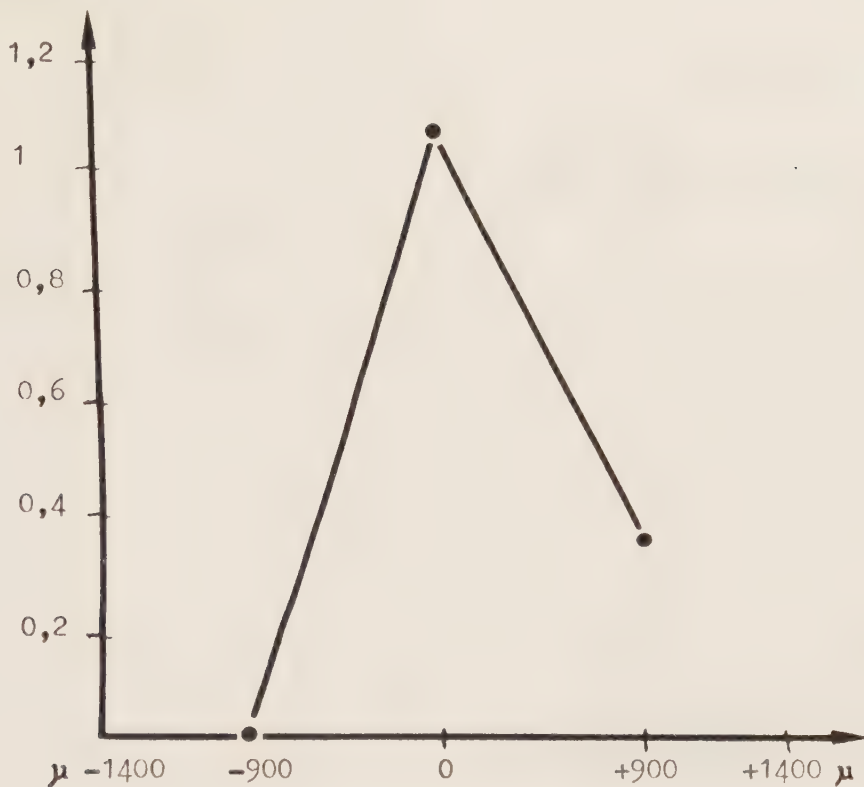


tranche de glande utilisée pour le dosage de la calcitonine.



les points à la surface d'une tranche de section représentent les cellules "C".

Nombre de cellules
claires pour 100
cellules folliculaires



Distance à partir
du milieu de l'axe
longitudinal du
lobe thyroïdien

pôle céphalique

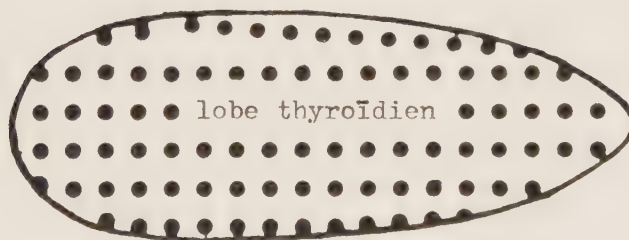


Figure 3

Distribution des cellules claires dans la thyroïde de Rat
(d'après STUX et coll., 1961).

Les cellules claires sont concentrées au centre du lobe thyroïdien,
leur nombre décroît rapidement quand on s'éloigne du milieu de l'axe
longitudinal du lobe.

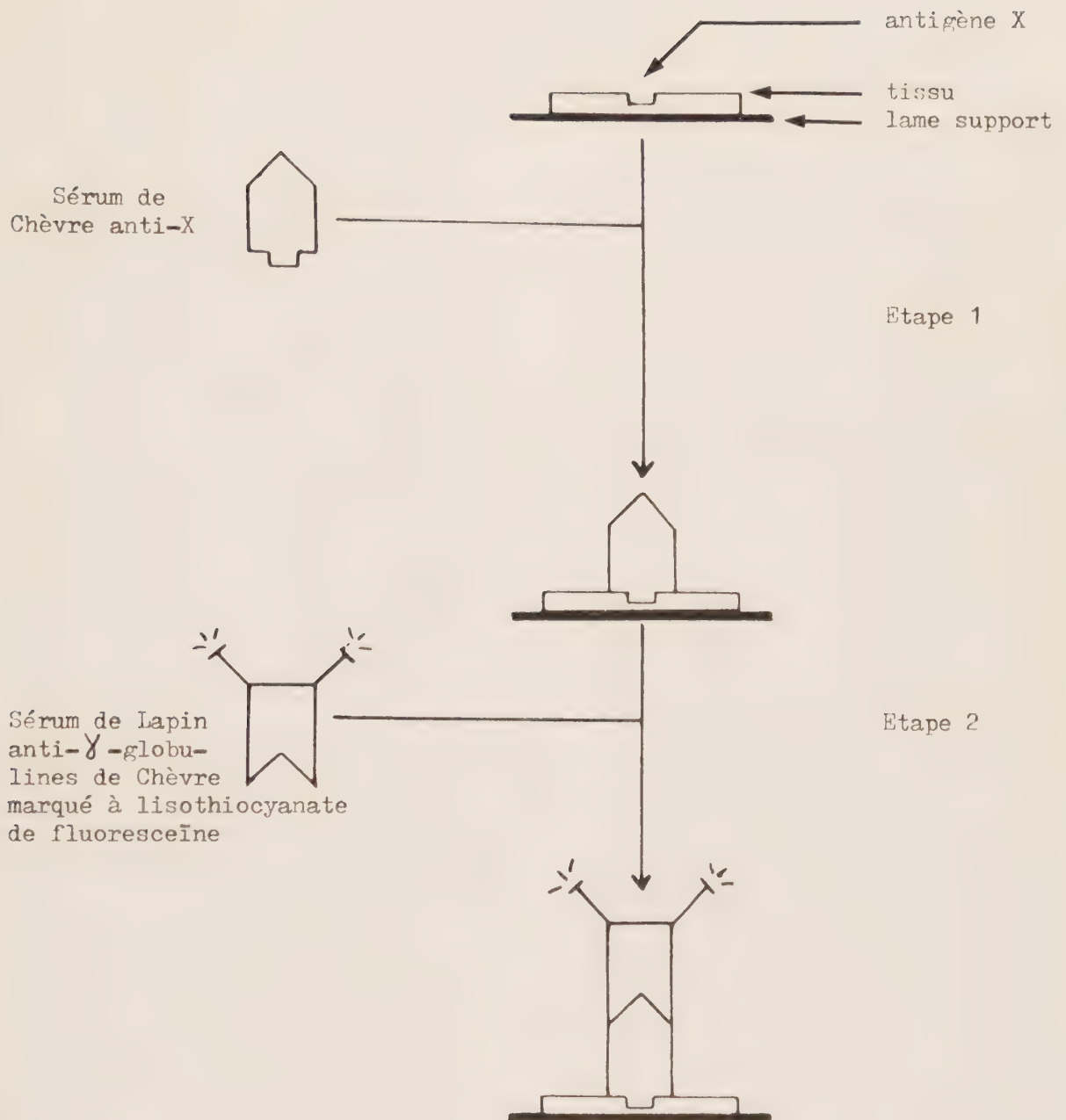


Figure 4

Mécanisme de la réaction d'immunofluorescence indirecte

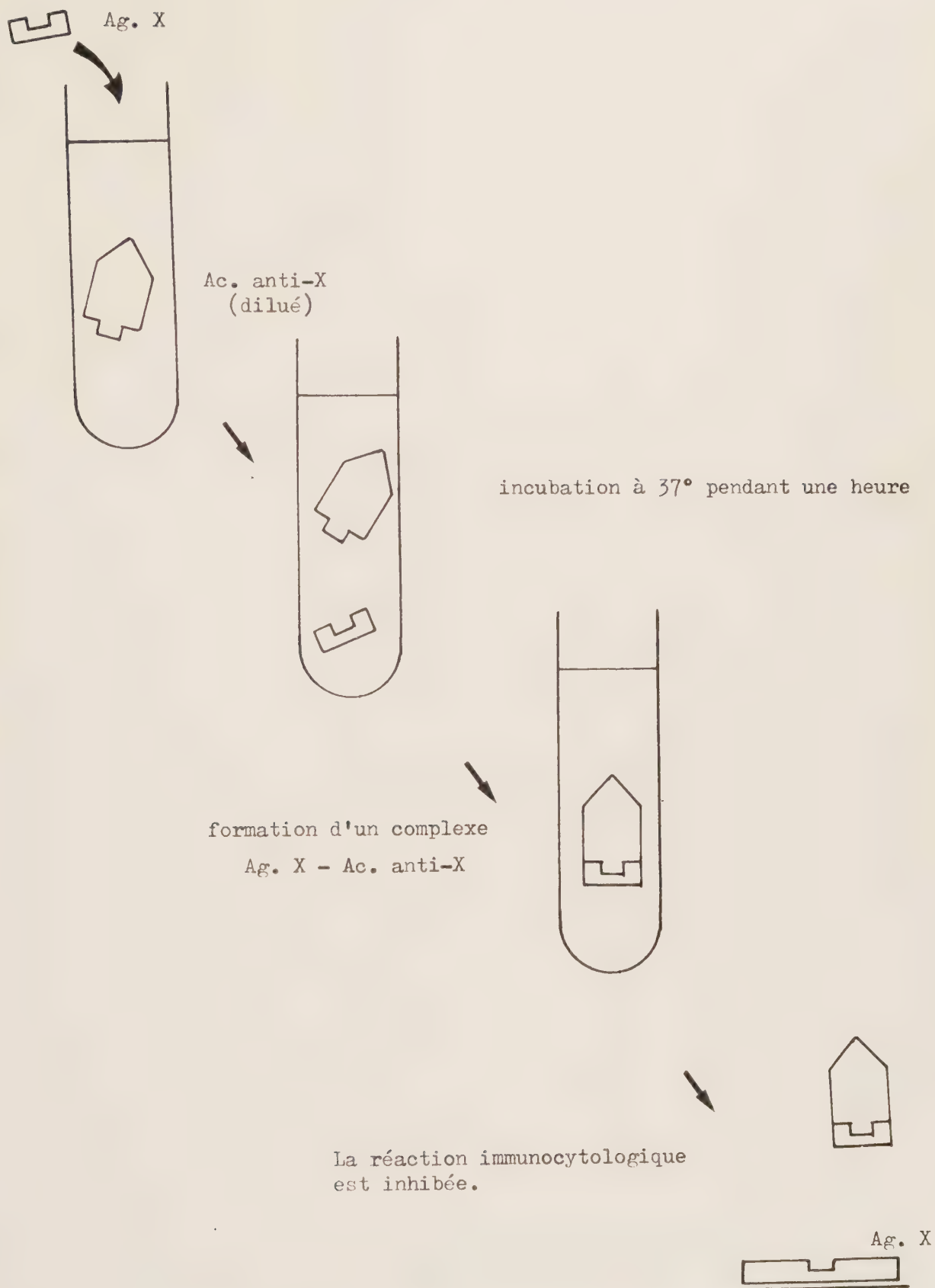


Figure 5 (A) : Contrôle de la spécificité de l'anticorps anti-X par incubation avec l'antigène homologue.

(Ac. = anticorps ; Ag. = antigène)

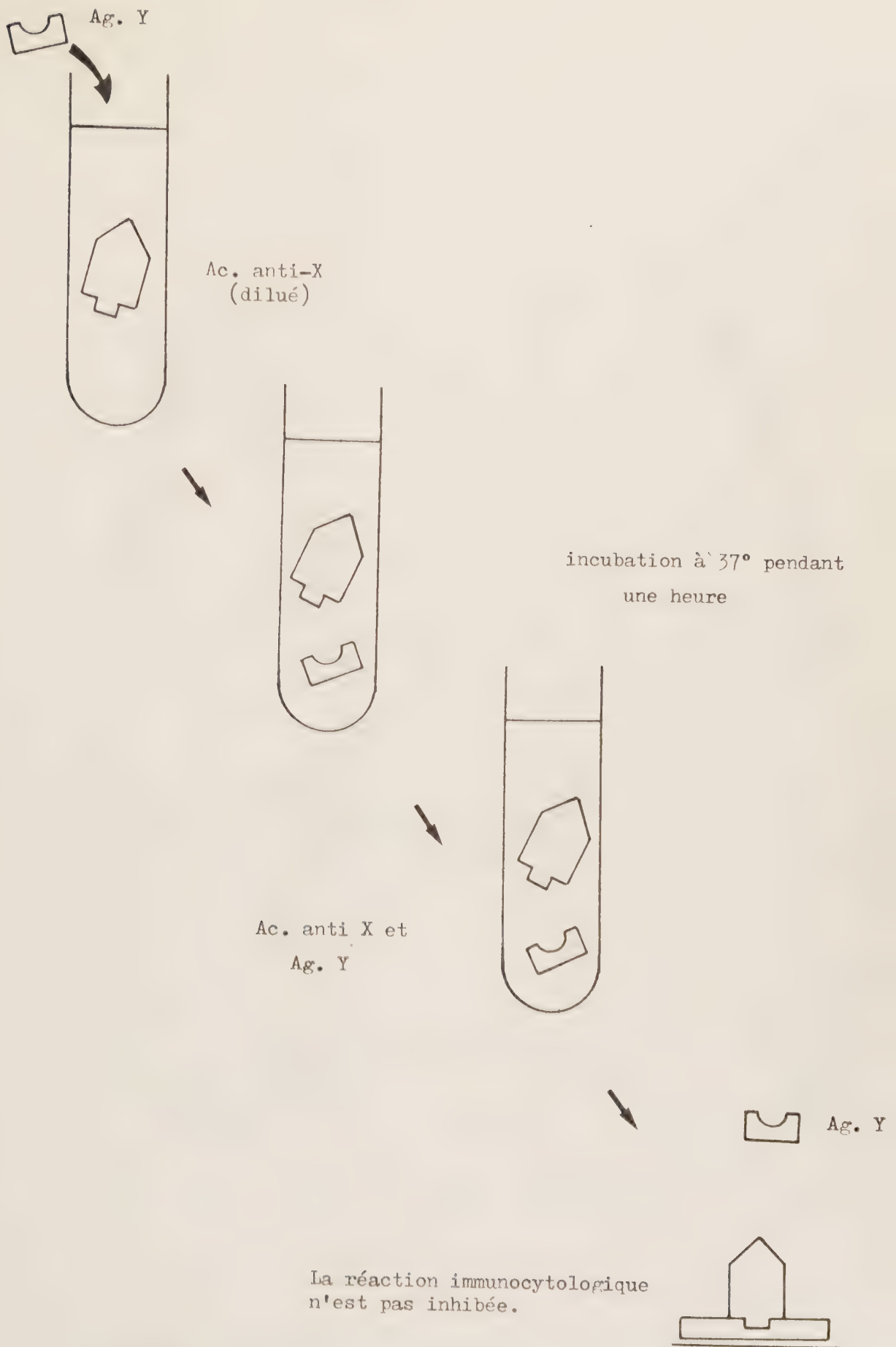


Figure 5 (B) : Contrôle de la spécificité de l'anticorps anti-X par incubation avec un antigène hétérologue.

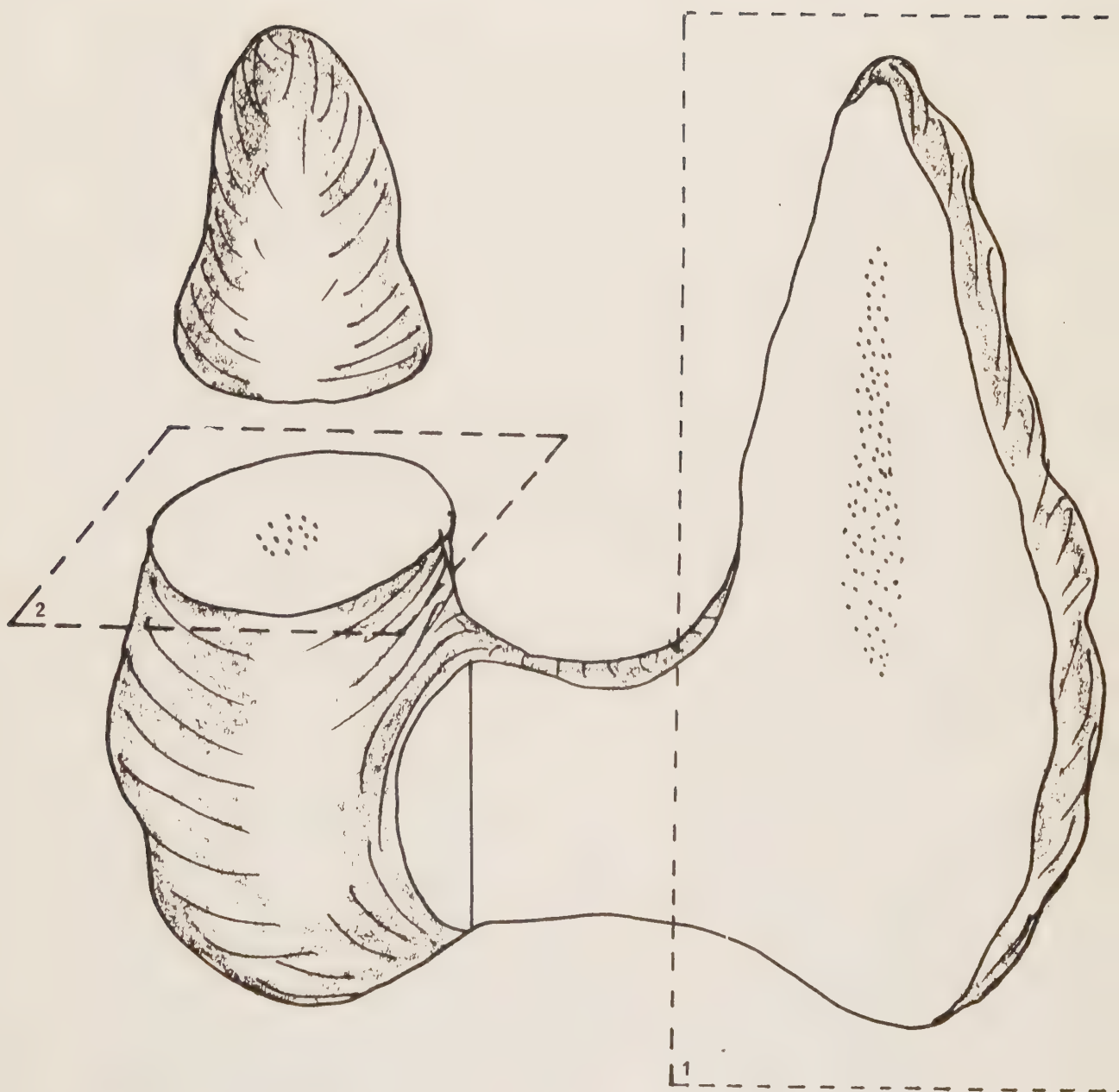


Figure 6

Schéma de la localisation des cellules à Calcitonine dans la thyroïde foetale humaine. Les cellules (•) se distribuent le long de l'axe longitudinal de chacun des lobes.

(1) plan de coupe frontal. (2) plan de coupe horizontal.

PLANCHE I :

Dans les exemplaires originaux cette planche est en couleur.

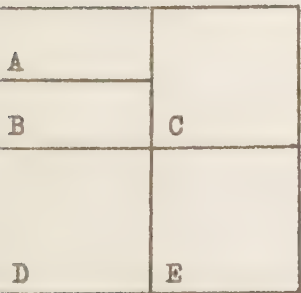


figure A : foetus mâle de 14 semaines :

Immunofluorescence.

Apparition des cellules à calcitonine dans la partie centrale du tiers moyen d'un lobe latéral, alors que les vésicules thyroïdiennes ne sont pas encore organisées. (Obj. x 40)

figure B : foetus mâle de 17 semaines : Immunofluorescence.

Quelques vésicules sont organisées, les cellules "C" encore peu nombreuses, se trouvent à leur voisinage. (Obj. x 40)

figure C : foetus femelle de 20 semaines : Immunofluorescence.

Les vésicules thyroïdiennes sont plus grosses et les cellules à calcitonine plus nombreuses. (Obj. x 40)

figure D : foetus anencéphale femelle de 34 semaines : Immunofluorescence.

Les nombreuses cellules "C" occupent leur position inter ou para-folliculaire caractéristique.

Les prolongements cellulaires sont bien visibles. (Obj. x 40)

figure E : foetus anencéphale femelle de 34 semaines : Trichrome de Masson.

Les cellules parafolliculaires dessinent un croissant à un pôle de la vésicule, leur noyau est globuleux, plus gros que celui des cellules folliculaires, leur cytoplasme est plus clair. Le cliché est pris dans la partie centrale du tiers moyen d'un lobe latéral. (Obj. x 40)

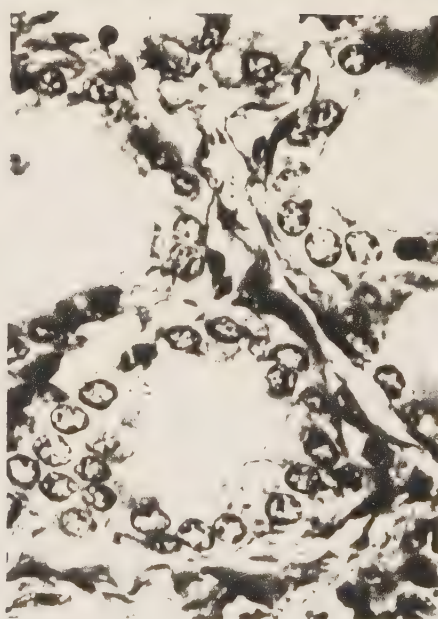
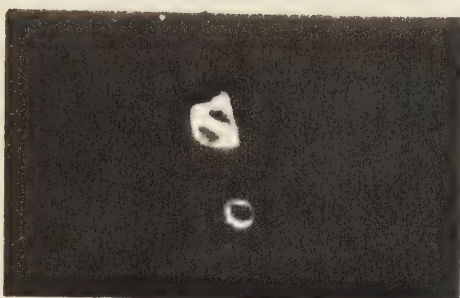


PLANCHE II : Evolution des cellules "C" au cours de la gestation,
mises en évidence par immunocytoologie.

figures A, A' : foetus mâle de 14 semaines.

Apparition d'une cellule à calcitonine dans la partie centrale du tiers moyen d'un lobe latéral. La cellule "C" (fig. A) présente la forme allongée et le prolongement caractéristiques de ce type cellulaire. (Obj. x 40)

figure B : foetus mâle de 15,5 semaines.

Les cellules "C" sont particulièrement nombreuses dans ce champs, mais il est à noter que les vésicules thyroïdiennes ne sont pas encore organisées. (Obj. x 25)

figure C : foetus femelle de 20 semaines.

L'organisation vésiculaire de la thyroïde est en place, les cellules "C" occupent leur position parafolliculaire définitive.

figure D : foetus anencéphale femelle de 34 semaines.

Les cellules "C" sont semblables à celles du foetus normal ; elles sont en position parafolliculaire ou interfolliculaire, ont une forme allongée et un gros noyau. (Obj. x 25)

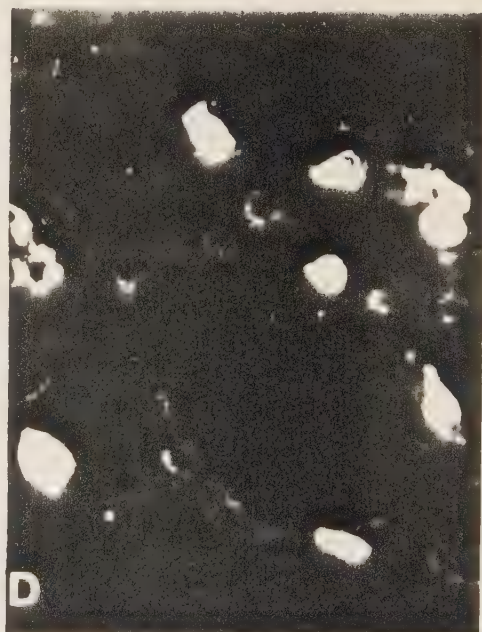
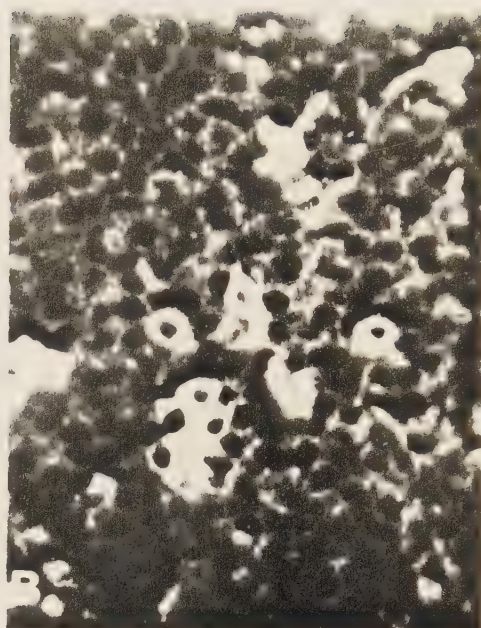
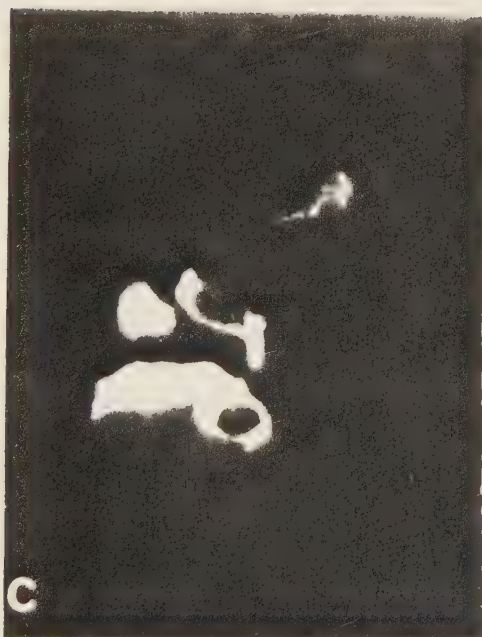


PLANCHE III : Etude de l'inhibition de la réaction immunocytoologique.

figures A et B : foetus anencéphale femelle de 34 semaines.

Champs homologues de coupes en série : immunofluorescence.

A : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine,

B : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine incubé avec la calcitonine humaine synthétique.

Sur la figure B l'extinction est complète.

a, b désignent les mêmes vésicules repérées sur les champs homologues. (Obj. x 25)

figures C et D : même foetus.

Autres champs homologues : immunofluorescence.

C : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine,

D : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine incubé avec la thyroxine.

Les mêmes cellules sont fluorescentes, donc il n'y a pas d'inhibition de la réaction.

a, b désignent les mêmes vésicules retrouvées sur les champs homologues. (Obj. x 25)

figures E et F : même foetus

Autres champs homologues de coupes en série : immunofluorescence.

E : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine,

F : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine incubé avec la somatostatine.

Les mêmes cellules sont fluorescentes sur les deux champs : la réaction immunocytoologique n'est pas éteinte.

a, b, c désignent les mêmes vésicules repérées sur les champs homologues. (Obj. x 25)

figures G et H : même foetus.

Autres champs homologues : immunofluorescence.

G : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine,

H : coupe traitée par l'anticorps anti-calcitonine incubé avec la parathormone.

Les mêmes cellules sont marquées sur les deux coupes, il n'y a pas d'inhibition de la réaction.

a, b désignent les mêmes vésicules repérées sur les champs homologues. (Obj. x 25)

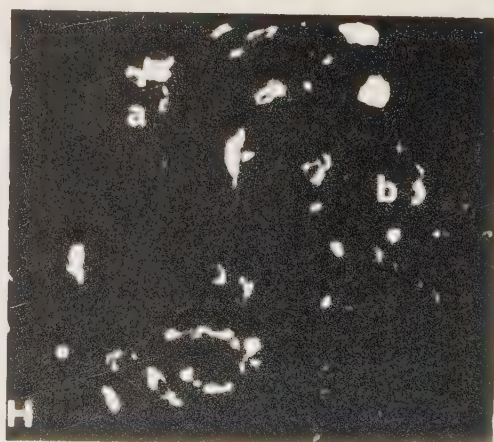
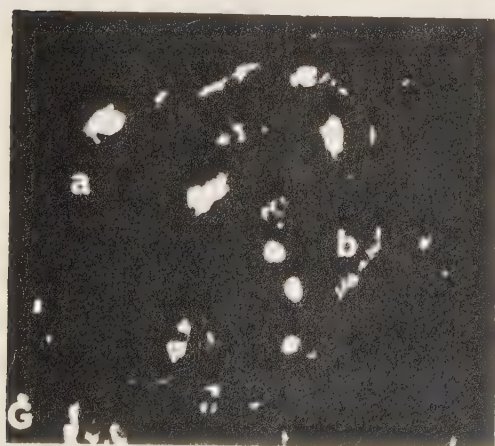
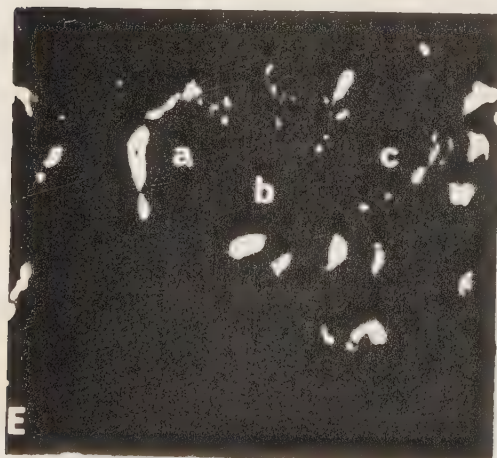
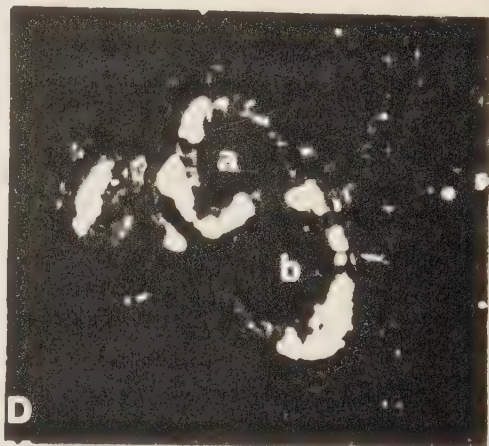
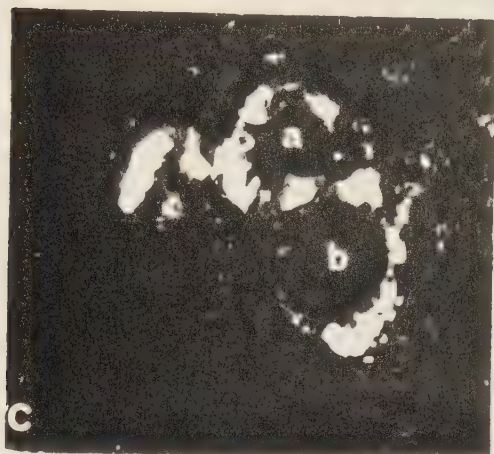
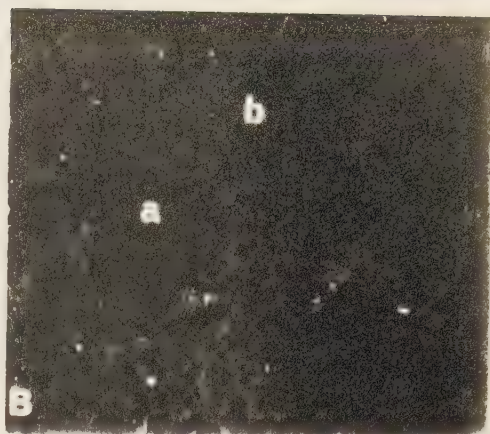
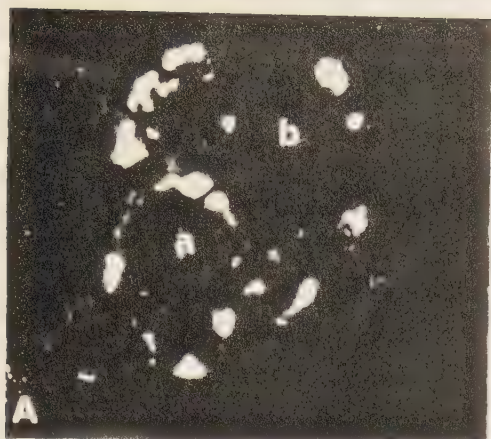


PLANCHE IV : Mise en évidence de l'argyrophilie des cellules para-folliculaires par la méthode d'UNGEWITTER.

Les quatre photographies sont prises sur un foetus anencéphale femelle de 34 semaines.

Le contour des vésicules est bien marqué, de ce fait, la position parafolliculaire ou interfolliculaire des cellules argyrophiles apparait nettement, alors que leur prolongement cellulaire est peu visible. (Obj. x 40)

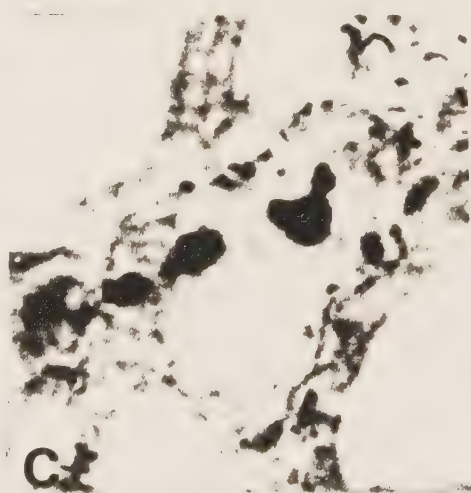
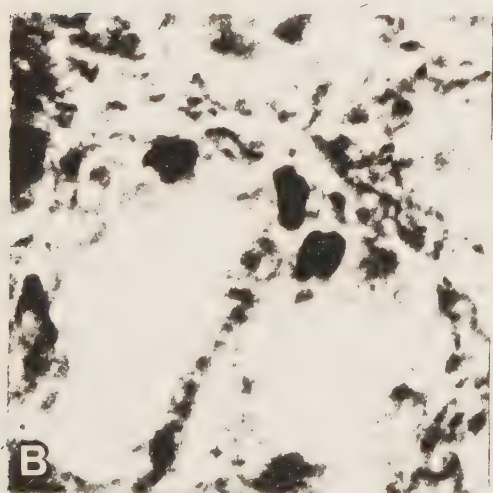
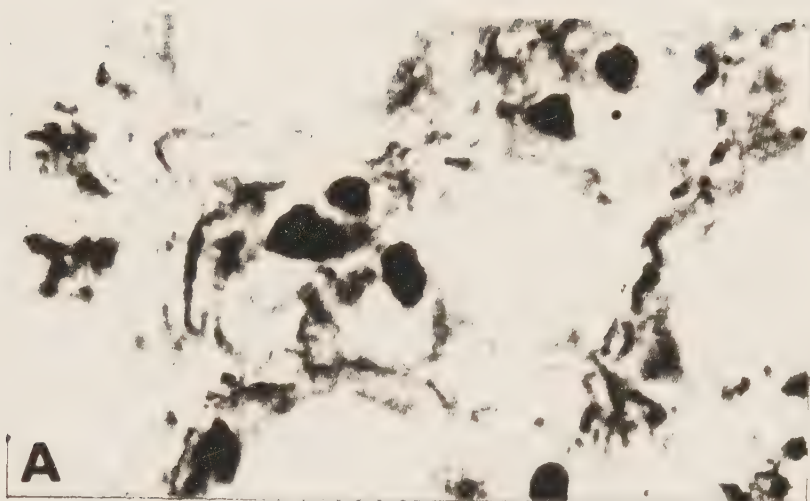


PLANCHE V : Mise en évidence de l'activité cholinestérasique des cellules parafolliculaires par la méthode de KARNOVSKY et ROOTS.

Figure A : fœtus femelle de 19 semaines.

Les cellules douées d'activité cholinestérasique sont en position inter ou parafolliculaire. La photographie est prise dans la partie centrale du tiers moyen d'un lobe latéral. (Obj. x 25)

Figures B et C : fœtus femelle de 16 semaines.

A ce stade de développement, les cellules douées d'activité cholinestérasique sont rares. Sur ces clichés, elles occupent déjà leur position parafolliculaire définitive au voisinage de vésicules précocément formées. (Obj. x 40)

